

**EKSTRAKSI SENYAWA POLIFENOL KULIT JERUK *BABY JAVA* (*Citrus sinensis* L. Osbeck) MENGGUNAKAN METODE EKSTRAKSI MASERASI  
(KAJIAN KONSENTRASI PELARUT DAN LAMA WAKTU EKSTRAKSI)**

**Oleh:**

**DINDA AYU PUTRI**

**145100501111028**

**Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh  
gelar Sarjana Teknologi Pangan**



**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN  
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2018**

## LEMBAR PERSETUJUAN

Judul : Ekstraksi Senyawa Polifenol Kulit Jeruk *Baby Java* (*Citrus sinensis* L. Osbeck) Menggunakan Metode Ekstraksi Maserasi (Kajian Konsentrasi Pelarut dan Lama Waktu Ekstraksi)

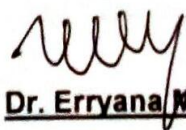
Nama Mahasiswa : Dinda Ayu Putri

N I M : 14510501111028

Jurusan : Teknologi Hasil Pertanian

Fakultas : Teknologi Pertanian

Dosen Pembimbing,



Dr. Erryana Martati, S.TP., MP.

NIP. 19691126 199903 2 003

Tanggal Persetujuan:

.....

LEMBAR PENGESAHAN

Judul : Ekstraksi Senyawa Polifenol Kulit Jeruk *Baby Java* (*Citrus sinensis* L. Osbeck) Menggunakan Metode Ekstraksi Maserasi (Kajian Konsentrasi Pelarut dan Lama Waktu Ekstraksi)

Nama Mahasiswa : Dinda Ayu Putri

N I M : 14510501111028

Jurusan : Teknologi Hasil Pertanian

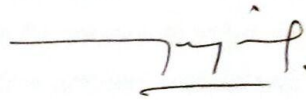
Fakultas : Teknologi Pertanian

Dosen Penguji I,

Dosen Penguji II,

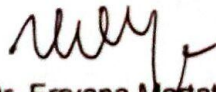


Prof. Dr. Ir. Yunianta, DEA  
NIP. 195906131986011001



Tunjung Mahatmanto STP., M.Si., Ph.D  
NIP. 198109082008011007

Dosen Penguji III,



Dr. Erryana Martati, S.TP., MP.  
NIP. 19691126 199903 2 003

Ketua Jurusan,



Prof. Dr. Teti Estiasih, STP., MP.  
NIP. 19701226 200212 2 001



## PERNYATAAN KEASLIAN TUGAS AKHIR

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama Mahasiswa : Dinda Ayu Putri  
NIM : 145100501111028  
Jurusan : Teknologi Hasil Pertanian  
Fakultas : Teknologi Pertanian  
Judul Tugas Akhir : Ekstraksi Senyawa Polifenol Kulit Jeruk Baby Java (*Citrus sinensis* L. Osbeck) Menggunakan Metode Ekstraksi Maserasi (Kajian Konsentrasi Pelarut dan Lama Waktu Ekstraksi)

Menyatakan bahwa,

Tugas Akhir dengan judul di atas merupakan karya asli penulis tersebut di atas. Apabila di kemudian hari terbukti pernyataan ini tidak benar saya bersedia dituntut sesuai hukum yang berlaku.

Malang, 28 Oktober 2018

Pembuat Pernyataan,



Dinda Ayu Putri  
NIM 145100501111028

## RIWAYAT HIDUP

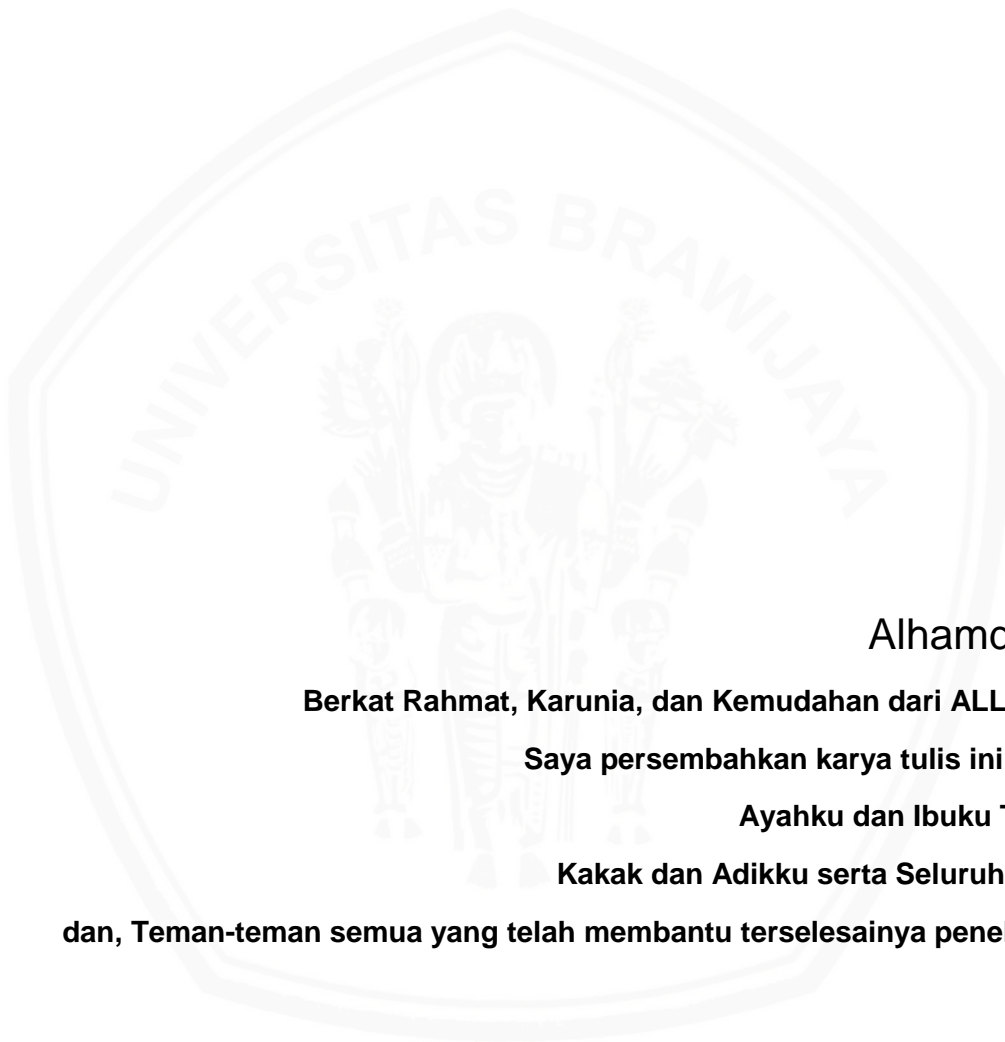


Penulis bernama lengkap Dinda Ayu Putri, lahir di Malang pada tanggal 31 Agustus 1996 dan merupakan anak kedua. Penulis lahir dari pasangan suami istri, yaitu Bapak Agus Gozhali dan Ibu Kartika Dewi Riyanti. Penulis sekarang bertempat tinggal di Jl. Klayatan II 4A RT 13 RW 12, Kec. Sukun Kota Malang.

Penulis menyelesaikan pendidikan sekolah dasar di SDN Bandungrejosari II Malang lulus pada tahun 2008. Lalu, melanjutkan sekolah menengah pertama di SMPN 6 Malang hingga lulus pada tahun 2011. Kemudian melanjutkan pendidikan di SMAN 4 Malang lulus pada tahun 2014. Setelah itu, melanjutkan jenjang pendidikan ke Universitas Brawijaya Malang pada tahun 2014 sebagai mahasiswa Program S1 Ilmu dan Teknologi Pangan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya. Selama kuliah, penulis pernah melakukan penyuluhan gizi kepada anak – anak SD di SDN Sawojajar 5. Penulis juga pernah mengikuti kepanitiaan yaitu Anggota Sie Keamanan OPJH (Orientasi Pengenalan Jurusan dan Himpunan) tahun 2015 dan melakukan pekerjaan paruh waktu.

***Hard work opens doors and shows the world that you are serious about being one of those rare - and special - human beings who use the fullness of their talents to do their very best.***

**(Robin S. Sharma)**



**Alhamdulillah**

**Berkat Rahmat, Karunia, dan Kemudahan dari ALLAH SWT**

**Saya persembahkan karya tulis ini kepada:**

**Ayahku dan Ibuku Tercinta,**

**Kakak dan Adikku serta Seluruh Kerabat**

**dan, Teman-teman semua yang telah membantu terselesainya penelitian ini.**

**Dinda Ayu Putri. 145100501111028. Ekstraksi Senyawa Polifenol Kulit Jeruk *Baby java* (*Citrus sinensis* L. Osbeck) Menggunakan Metode Ekstraksi Maserasi (Kajian Konsentrasi Pelarut dan Lama Waktu Ekstraksi). SKRIPSI. Pembimbing: Dr. Erryana Martati S.TP., MP.**

---

### **RINGKASAN**

Proses pengolahan jeruk manis *baby java* (*Citrus sinensis* L. Osbeck) menghasilkan limbah kulit jeruk yang masih banyak mengandung senyawa bioaktif. Maserasi adalah proses ekstraksi dengan cara perendaman sampel pelarut organik. Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi karakteristik ekstrak adalah konsentrasi pelarut dan lama waktu ekstraksi. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh dari konsentrasi etanol dan lama waktu ekstraksi dengan metode maserasi terhadap karakteristik ekstrak kulit jeruk *baby java*.

Penelitian ini disusun secara faktorial yang dirancang dengan Rancangan Acak Faktorial (RAK) dengan 2 faktor. Faktor I konsentrasi etanol terdiri dari 3 level yaitu etanol 80, 85 dan 90%. Sedangkan untuk faktor II merupakan lama waktu ekstraksi yang terdiri dari 3 level yaitu 24, 48, dan 72 jam. Analisis ekstrak kulit jeruk *baby java* meliputi total fenol, flavonoid, kadar tanin, aktivitas antioksidan DPPH dan rendemen. Perlakuan terbaik menggunakan metode Zeleny. Analisa data dilakukan dengan metode *Analysis of Variance* (ANOVA) dan uji lanjut yang digunakan yaitu uji Tukey.

Hasil penelitian pada bubuk kulit jeruk *baby java* didapatkan hasil total fenol sebesar 0,5 mg GAE/g, total flavonoid 0,2 mg QE/g, kadar tanin 2,59 mg/g, IC50 sebesar 626,95 ppm dan rendemen 36 %. Sedangkan untuk hasil ekstraksi kulit jeruk *baby java* metode maserasi didapatkan perlakuan terbaik pada perlakuan konsentrasi etanol 85% dengan lama waktu ekstraksi 36 jam. Hasil total fenol sebesar 5,09 mg GAE/g, total flavonoid 3,89 mg QE/g, kadar tanin 31 mg/g, IC50 367,10 mg/L dan rendemen 21%.

Kata Kunci : kulit jeruk *baby java*, ekstraksi, maserasi.

**Dinda Ayu Putri. 145100501111028. Extraction of Polyphenols Compound from *Baby java* (*Citrus sinensis* L. Osbeck) Peel Using Maceration Method (Study of Solvent Concentration and Time of Extraction). SKRIPSI. Pembimbing: Dr. Erryana Martati S.TP., MP.**

---

## SUMMARY

Processing of Baby Java (*Citrus sinensis* L. Osbeck) produces peel waste that still contain a lot of bioactive compounds. Maceration is an extraction process by immersing sample in solvent. The purpose of this research was to study the effect of ethanol concentration and time extraction using maceration method on characteristic of extract of Baby java peels.

This research used factorial design of Factorial Randomized Block Design with two factors. The first factor was the ethanol concentration consisting of 3 levels (80%, 85% and 90%). The second factor was the time of extraction consisting of 3 levels (12, 24, and 36 hours). Analysis of *baby java* peel extract included total phenol, total flavonoid, tannin content, DPPH antioksidan activity, and yield. The best treatment of this research was carried out using Zeleny Method. The data obtained were analysed using Analysis of Variance (ANOVA) and followed by Tukey test.

The result of the research on *baby java* peel powder was obtained yield of 36%, total phenol 0,5 mg GAE/g, flavonoids content 0,2 mg QE/g, tannin content 2,59 mg/g, and IC50 ppm 626,95. The best treatment was the treatment with 85% ethanol and 36 hours of time extraction. The extract had characteristic as follows: the yield 21%, total phenol 5,09 mg GAE/g, flavonoids content 3,89 mg QE/g, tannin content 31 mg/g, and 367,10 IC50 mg/L.

Keywords : *Baby java* peel, extraction, maceration.



## KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, puji syukur kepada Allah Yang Maha Kuasa karena berkat rahmat dan anugerah-Nya penulis dapat menyelesaikan Laporan Tugas Akhir yang berjudul "Ekstraksi Senyawa Polifenol Kulit Jeruk *Baby Java* (*Citrus sinensis* L. Osbeck) Menggunakan Metode Ekstraksi Maserasi (Kajian Konsentrasi Pelarut dan Lama Waktu Ekstraksi)" dengan baik. Penulis juga ingin menyampaikan terima kasih kepada:

1. Kedua Orang tua dan segenap keluarga yang telah banyak memberi dukungan moril kepada penulis.
2. Ibu Dr. Erryana Martati, S.TP., MP. selaku dosen pembimbing yang telah meluangkan waktunya dan membimbing penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini secara menyeluruh.
3. Prof. Dr. Teti Estiasih, STP., MP. selaku Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Universitas Brawijaya
4. Bapak Prof. Dr. Ir. Yunianta, DEA dan Bapak Tunjung Mahatmanto, STP, MP, Ph.D selaku dosen penguji I dan II yang telah memberikan kritik, saran dan masukan pada seminar hasil skripsi.
5. Dhita, Astien, Okti, Dela, Alfis, Pras dan seluruh teman-teman yang tidak dapat saya sebutkan satu-persatu, yang telah berbaik hati membantu dan memberikan semangat dalam menyelesaikan laporan ini.
6. Serta kepada semua pihak yang telah membantu sehingga laporan ini dapat diselesaikan.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam penyusunan laporan ini, oleh karena itu kritik dan saran sangat dibutuhkan agar laporan ini lebih baik. Akhir kata semoga laporan ini bermanfaat bagi semua pihak.

Malang, Oktober 2018

Penulis

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	i
<b>LEMBAR PERSETUJUAN</b> .....	ii
<b>LEMBAR PENGESAHAN</b> .....	iii
<b>PERNYATAAN KEASLIAN TUGAS AKHIR</b> .....	iv
<b>RIWAYAT HIDUP</b> .....	v
<b>UCAPAN TERIMA KASIH</b> .....	vi
<b>RINGKASAN</b> .....	vii
<b>SUMMARY</b> .....	viii
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	ix
<b>DAFTAR ISI</b> .....	x
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xiii
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xiv
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xv
<b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan Penelitian .....	3
1.4 Manfaat Penelitian .....	3
1.5 Hipotesa.....	3
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	4
2.1 Jeruk Manis .....	4
2.2 Kulit Jeruk Manis <i>Baby Java</i> .....	6
2.3 Minyak Atsiri pada Kulit Jeruk .....	7
2.4 Senyawa Fitokimia.....	9
2.4.1 Fenol .....	9
2.4.2 Tanin .....	11
2.4.3 Flavonoid .....	13
2.4.3.1 Hesperidin .....	14
2.4.3.2 Narirutin .....	15
2.4.3.3 Nobiletin .....	16
2.5 Antioksidan .....	17

2.5.1 Mekanisme Kerja Antioksidan .....	19
2.5.2 Pengujian Aktivitas Senyawa Antioksidan .....	21
2.6 Ekstraksi .....	22
2.6.1 Maserasi .....	22
2.6.2 Perkolasi .....	23
2.6.3 Soxhletasi .....	23
2.7 Pelarut Etanol .....	24
2.8 LC-MS .....	25
<b>BAB III METODE PENELITIAN .....</b>	<b>26</b>
3.1 Tempat dan Waktu Pelaksanaan .....	26
3.2 Alat dan Bahan .....	26
3.2.1 Alat .....	26
3.2.2 Bahan .....	26
3.3 Metode Penelitian .....	27
3.4 Pelaksanaan Penelitian .....	28
3.4.1 Pembuatan Bubuk Kulit Jeruk <i>Baby java</i> .....	28
3.4.2 Proses Ekstraksi Bubuk Kulit Jeruk <i>Baby java</i> .....	28
3.5 Parameter Penelitian .....	29
3.6 Analisa Data .....	29
3.7 Diagram Alir Penelitian .....	30
3.7.1 Pembuatan Bubuk Kulit Jeruk <i>Baby java</i> .....	30
3.7.2 Proses Ekstraksi Bubuk Kulit Jeruk <i>Baby java</i> .....	31
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>32</b>
4.1 Karakteristik Bahan Baku.....	32
4.2 Karakteristik Kimia Ekstrak Kulit Jeruk <i>Baby java</i> .....	35
4.2.1 Rendemen .....	35
4.2.2 Total Fenol.....	38
4.2.3 Total Flavonoid .....	42
4.2.4 Kadar Tanin .....	46
4.2.5 Aktivitas Antioksidan IC50.....	49
4.3 Uji korelasi senyawa bioaktif dengan IC50 .....	52
4.4 Perlakuan Terbaik Metode Zeleny .....	54
4.4.1 Senyawa flavonoid pada perlakuan terbaik .....	58

<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>62</b>
5.1 Kesimpulan.....	62
5.2 Saran.....	62
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>63</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>80</b>



## DAFTAR TABEL

<b>Tabel 2.1</b>	Kandungan Gizi Dalam 100 gram Buah Jeruk Manis .....	4
<b>Tabel 2.2</b>	Klasifikasi Senyawa Fenol Pada Tumbuh-Tumbuhan .....	10
<b>Tabel 3.1</b>	Perlakuan Sampel Ekstrak Kulit Jeruk <i>Baby java</i> .....	27
<b>Tabel 4.1</b>	Karakteristik Bubuk Kulit Jeruk <i>Baby java</i> .....	32
<b>Tabel 4.2</b>	Rerata Rendemen Akibat Perlakuan Konsentrasi Pelarut .....	36
<b>Tabel 4.3</b>	Rerata Rendemen Akibat Lama Waktu Ekstraksi.....	37
<b>Tabel 4.4</b>	Rerata Total Fenol Akibat Perlakuan Konsentrasi Pelarut Dan Lama Waktu Ekstraksi .....	40
<b>Tabel 4.5</b>	Rerata Total Flavonoid Akibat Perlakuan Konsentrasi Pelarut Dan Lama Waktu Ekstraksi .....	44
<b>Tabel 4.6</b>	Rerata Kadar Tanin Akibat Perlakuan Konsentrasi Pelarut Dan Lama Waktu Ekstraksi .....	47
<b>Tabel 4.7</b>	Rerata Aktivitas Antioksidan Akibat Perlakuan Konsentrasi Pelarut Dan Lama Waktu Ekstraksi .....	51
<b>Tabel 4.8</b>	Pemilihan Parameter Berdasarkan Faktor Kepentingan dan Nilai Pengharapan yang Terbaik .....	55
<b>Tabel 4.9</b>	Hasil Penentuan Perlakuan Terbaik Ekstraksi Kulit Jeruk <i>Baby java</i> .....	55
<b>Tabel 4.10</b>	Perbandingan Karakteristik Paramter Bubuk dan Ekstrak Kulit Jeruk <i>Baby java</i> .....	56
<b>Tabel 4.11</b>	Luas Area Komponen Senyawa Flavonoid Ekstrak Kulit Jeruk <i>Baby java</i> .....	60



## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar 2.1</b>	Bagian-bagian pada jeruk.....	6
<b>Gambar 2.2</b>	Struktur kimia fenol .....	10
<b>Gambar 2.3</b>	Struktur katekin dan prosianidin.....	13
<b>Gambar 2.4</b>	Struktur hesperidin .....	15
<b>Gambar 2.5</b>	Struktur narirutin .....	16
<b>Gambar 2.6</b>	Struktur nobiletin.....	16
<b>Gambar 2.7</b>	Mekanisme terbentuknya peroksida aktif .....	19
<b>Gambar 3.1</b>	Diagram Alir Pembuatan Bubuk Kulit Jeruk <i>Baby</i> .....	30
<b>Gambar 3.2</b>	Diagram Alir Proses Ekstraksi Bubuk Kulit Jeruk <i>Baby</i> .....	31
<b>Gambar 4.1</b>	Grafik rerata rendemen ekstrak kulit jeruk <i>baby java</i> akibat perbedaan konsentrasi pelarut dan lama waktu esktraksi .....	35
<b>Gambar 4.2</b>	Grafik rerata total fenol ekstrak kulit jeruk <i>baby java</i> akibat perbedaan konsentrasi pelarut dan lama waktu esktraksi .....	39
<b>Gambar 4.3</b>	Grafik rerata total flavonoid ekstrak kulit jeruk <i>baby java</i> akibat perbedaan konsentrasi pelarut dan lama waktu esktraksi .....	42
<b>Gambar 4.4</b>	Grafik rerata kadar tanin ekstrak kulit jeruk <i>baby java</i> akibat perbedaan konsentrasi pelarut dan lama waktu esktraksi .....	46
<b>Gambar 4.5</b>	Grafik rerata aktivitas abtiksidan ekstrak kulit jeruk <i>baby java</i> akibat perbedaan konsentrasi pelarut dan lama waktu esktraksi .....	50
<b>Gambar 4.6</b>	Grafik korelasi fenol dan IC50 dari ekstrak kulit jeruk <i>baby java</i> akibat perbedaan konentration pelarut dan lama waktu ekstraksi .....	52
<b>Gambar 4.7</b>	Grafik korelasi flavonoid dan IC50 dari ekstrak kulit jeruk <i>baby java</i> akibat perbedaan konentration pelarut dan lama waktu ekstraksi .....	53
<b>Gambar 4.8</b>	Puncak-puncak senyawa yang ingin diidentifikasi LC-MS.....	59
<b>Gambar 4.9</b>	Hasil kromatogram flavonoid .....	59

## DAFTAR LAMPIRAN

<b>Lampiran 1.</b>	Prosedur Analisa .....	80
<b>Lampiran 2.</b>	Pemilihan Perlakuan Terbaik Metode <i>Zeleny</i> .....	86
<b>Lampiran 3.</b>	Analisa Data Rendemen (ANOVA) .....	87
<b>Lampiran 4.</b>	Analisa Data Fenol (ANOVA) .....	89
<b>Lampiran 5.</b>	Analisa Data Flavonoid (ANOVA) .....	90
<b>Lampiran 6.</b>	Analisa Data Tanin (ANOVA) .....	91
<b>Lampiran 7.</b>	Analisa Data Aktivitas Antioksidan IC50 (ANOVA) .....	93
<b>Lampiran 8.</b>	Perlakuan Terbaik Metode <i>Zeleny</i> .....	94
<b>Lampiran 9.</b>	Data Hasil Analisa Flavonoid Menggunakan LC-MS .....	97
<b>Lampiran 10.</b>	Foto Selama Penelitian .....	98



## BAB I

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara yang kaya akan hasil pertanian seperti buah dan sayuran. Salah satu komoditas hortikultura yang sangat sering dikonsumsi dan ditanam oleh masyarakat Indonesia adalah tanaman jeruk (*Citrus sp*). Beberapa jenis jeruk lokal yang dibudidayakan di Indonesia adalah jeruk keprok (*Citrus reticulata/nobilis* L.), jeruk siam (*C. microcarpa* L. dan *C. sinensis* L.) jeruk besar (*C. maxima* Herr.) (Kemenristek, 2000). Tingginya produksi dan tingkat konsumsi buah jeruk di Indonesia menyebabkan hasil limbah kulit buah jeruk yang juga cukup banyak.

Jeruk *baby java* adalah salah satu jenis dari jeruk manis yang sering dikonsumsi dengan cara diperas untuk dijadikan minuman. Salah satu tempat penghasil jeruk *baby java* di Indonesia yaitu Desa Selorejo yang terletak di Kabupaten Malang, provinsi Jawa Timur. Secara umum kandungan gizi pada jeruk manis cukup tinggi yaitu pada 100 gram jeruk manis terdapat vitamin C sebesar 30 I.U, vitamin A sebesar 200 I.U, zat besi sebesar 0.3 mg, phosphor 20 mg dan kandungan senyawa-senyawa antioksidan (AAK, 2006).

Pada bagian kulitnya, jeruk manis mempunyai kandungan komponen fenolik seperti pektin, tanin dan senyawa flavonoid serta mengandung atsiri yang terdiri dari berbagai komponen seperti terpen, sesquiten, aldehida, ester dan sterol (Friatna dkk, 2011). Kandungan-kandungan senyawa bioaktif pada kulit jeruk terutama senyawa fenolik memiliki potensi yang tinggi untuk berperan sebagai zat antioksidan hingga zat antiproliferatif (Bocco *et al.*, 1998; Ghasemi *et al.*, 2009; Berim and Gang, 2015). Senyawa bioaktif yang khas ditemukan pada kulit jeruk adalah hesperidin, narirutin dan nobiletin yang termasuk dalam senyawa flavonoid (Londono *et al.*, 2010; Schieber *et al.*, 2001). Senyawa hesperidin dapat berfungsi sebagai senyawa antioksidan, anti-inflamasi, efek imunomodulator dan dapat menurunkan kolesterol (Yeh *et al.*, 2207; Lee *et al.*, 1999). Sedangkan nobiletin memiliki fungsi kesehatan seperti efek imunomodulator (Kurowska & Manthey, 2004). Selama ini kulit jeruk *baby java* belum sepenuhnya dimanfaatkan dan menjadi limbah yang dibuang begitu saja, oleh karena

itu perlu dilakukan suatu pengolahan limbah untuk nantinya dihasilkan suatu produk yang berguna dengan memanfaatkan senyawa-senyawa antioksidan yang terdapat pada kulit jeruk *baby java*.

Senyawa antioksidan adalah senyawa yang dapat menghambat pembentukan karsinogen dan menghalanginya menetap dalam tubuh. Antioksidan bekerja dengan cara menangkap radikal bebas yang terbentuk atau berada dalam tubuh (Mardiah dkk, 2006). Senyawa bioaktif pada kulit jeruk yang dapat berperan sebagai senyawa antioksidan yaitu senyawa fenol dan senyawa flavonoid. Menurut Shahwar *et al.* (2010) senyawa golongan fenol dan flavonoid diketahui sangat berperan terhadap aktivitas antioksidan, semakin besar kandungan senyawa golongan fenolnya maka diduga akan semakin besar pula aktivitas antioksidannya.

Salah satu proses yang dapat digunakan untuk memperoleh senyawa antioksidan pada kulit jeruk adalah proses ekstraksi. Proses ekstraksi merupakan proses pemisahan senyawa aktif dari bahan dengan menggunakan pelarut yang sesuai (Handa *et al.*, 2008). Maserasi adalah metode ekstraksi sederhana yang paling banyak digunakan. Metode ini dilakukan dengan cara memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu kamar (Mukhriani, 2014).

Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi proses ekstraksi adalah konsentrasi pelarut dan lama waktu ekstraksi. Pelarut etanol digunakan pada penelitian ini dikarenakan etanol merupakan pelarut yang telah dikenal sebagai pelarut yang baik dalam mengekstrak senyawa polifenol dan aman untuk dikonsumsi manusia (Do *et al.*, 2014). Perbedaan konsentrasi etanol digunakan untuk mengetahui perbedaan kadar senyawa fenolik serta flavonoid yang akan diperoleh.

Pada proses ekstraksi, semakin lama proses dilakukan maka kesempatan untuk bersentuhan antara pelarut dengan bahan akan semakin besar sehingga hasilnya akan bertambah sampai pada titik jenuh larutan (Wahyuni dan Widjanarko, 2015). Oleh karena itu penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa fenolik yang mempunyai aktivitas antioksidan pada kulit jeruk *baby java* dengan kualitas terbaik menggunakan metode ekstraksi maserasi yang ditinjau dari perbedaan konsentrasi etanol yang digunakan (90%, 85% dan 80%) dan lama waktu ekstraksi (12, 24 dan 36 jam).

## 1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana pengaruh lama waktu ekstraksi pada karakteristik kimia ekstrak kulit jeruk *baby java* dengan metode ekstraksi maserasi?
2. Bagaimana pengaruh perbedaan konsentrasi etanol pada karakteristik kimia ekstrak kulit jeruk *baby java* dengan metode ekstraksi maserasi?

## 1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk menentukan lama waktu proses ekstraksi dan konsentrasi etanol ekstraksi kulit jeruk *baby java* yang menghasilkan karakteristik terbaik
2. Untuk menghasilkan ekstrak kulit jeruk *baby java* dengan perlakuan terbaik sehingga didapatkan aktivitas antioksidan tertinggi

## 1.4 Manfaat Penelitian

1. Meningkatkan nilai manfaat dari kulit jeruk *baby java*
2. Memberikan informasi mengenai proses ekstraksi maserasi kulit jeruk *baby java*
3. Memberikan informasi mengenai karakteristik fungsional pada ekstrak kulit jeruk *baby java*

## 1.5 Hipotesa

Diduga perbedaan lama waktu ekstraksi dan konsentrasi pelarut akan menghasilkan perbedaan karakteristik fungsional dari ekstrak kulit jeruk *baby java*.



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Jeruk manis

Jeruk merupakan salah satu jenis buah-buahan yang sangat digemari dan banyak ditanam di Indonesia. Buah jeruk ini bukan merupakan buah musiman dan selalu tersedia sepanjang tahun karena tanaman ini tidak mengenal musim berbunga yang khusus. Tanaman jeruk adalah tanaman tahunan dan sudah sekitar 70-80% dikembangkan di Indonesia dan setiap tahunnya mengalami perkembangan dalam pembudidayaannya baik mencakup luasan lahan, jumlah produksi bahkan permintaan pasar (Kementrian Pertanian, 2011).

Tanaman jeruk dapat ditanam pada semua jenis tanah, pH sekitar 5-6 dan cukup air serta bahan organis. Perkembangbiakan yang baik dengan okulasi atau sambungan dan sebagai batang pokok dipilih yang sesuai (Sianipar, 2010). Menurut Departemen Kesehatan RI, kandungan gizi pada jeruk manis dalam 100 gram dapat dilihat pada **tabel 2.1**.

**Tabel 2.1 Kandungan Gizi Dalam 100 gram Buah Jeruk Manis**

Komponen	Jumlah
Kalori (kal)	44,0
Protein (g)	0,8
Lemak (g)	0,2
Karbohidrat (g)	11,0
Kalsium (mg)	19,0
Fosfor (mg)	16,0
Vitamin A (SI)	190,0
Vitamin B1 (mg)	0,08
Vitamin C (mg)	49,0
Air (g)	87,5

**Sumber : Departemen Kesehatan RI, (1989)**

Varietas jeruk manis terdapat banyak sekali jenisnya yaitu jeruk manis biasa (*common orange*), jeruk manis pusa (*novel orange*), jeruk manis merah darah (*pigmented orange*), dan jeruk manis tanpa rasa asam (*acidless orange*) (Simanjuntak, 2015). Jeruk manis biasa memiliki ciri-ciri buahnya berwarna kuning atau kombinasi antara kuning dan merah, tekstur dagingnya kasar, mengandung biji,

sangat produktif berbuah, rasa manis buahnya segar agak asam, dan berumur panjang. Jeruk manis pular mempunyai ciri khas yang terdapat pular di ujung buahnya, daging buah umumnya tidak berbiji, bertekstur rapuh, dan segmennya mudah dipisah. Sedangkan jeruk merah darah memiliki ciri-ciri yaitu pada semua bagian buah jeruk manis (kulit, daging, buah, dan cairan sari buah) berwarna merah akibat pigmen antosianin.

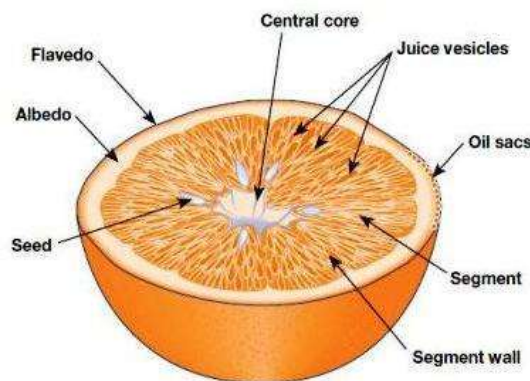
Salah satu contoh jeruk manis tanpa rasa asam yaitu jeruk manis *baby java* atau sering disebut juga sebagai jeruk peras, mempunyai nama latin *Citrus sinensis* (L.) Osbeck. Menurut Pracaya (2003), taksonomi jeruk manis peras termasuk dalam klasifikasi berikut ini :

Subgenus : *Eucitrus*  
Genus : *Citrus*  
Subtribe : *Citrinae*  
Tribe : *Citreae*  
Subfamili : *Aurantioideae*  
Famili : *Rutaceae*  
Ordo : *Rutales*  
Klas : *Dicotyledoneae*  
Subfilum : *Angiospermae*  
Filum : *Spermatophyta*

Jeruk manis merupakan jeruk yang banyak digemari karena rasanya yang sangat manis tanpa asam sedikit pun, sehingga banyak ditanam saat ini. Jeruk manis memiliki berbagai macam sebutan sesuai dengan tempat atau daerah jeruk tersebut ditanam. Jeruk manis yang cukup banyak dibudidayakan di desa Selorejo kabupaten Malang adalah jeruk *baby java* (Wijana dkk, 2016). Ciri-ciri jeruk manis ini yaitu daging buahnya berwarna kuning atau merah orange, rasanya manis, kandungan air dalam dagingnya banyak dan buahnya sangat rapat satu sama lain. Jeruk manis *baby java* mempunyai kandungan vitamin yang tinggi diantaranya vitamin C yakni (53.2 mg), vitamin A (11µg), potassium (181 mg), dan kalsium (40mg) (Etebu and Nwauzoma., 2014).

## 2.2 Kulit jeruk manis *baby java*

Pada umumnya kulit jeruk manis terdiri atas flavedo, kelenjar minyak, albedo dan ikatan pembuluh. Kulit jeruk secara fisik dapat dibagi menjadi dua bagian utama yaitu flavedo dan albedo (kulit bagian dalam yang berupa jaringan busa). Kulit jeruk menghasilkan minyak atsiri yang sering digunakan sebagai aromatik dengan komposisi senyawanya adalah limonene, sitronelal, geraniol, linalol,  $\alpha$ -pinen, mirsen,  $\beta$ -pinen, sabinen, geraniol asetat, nonanal, geraniol,  $\beta$ -kariofilen, dan  $\alpha$ -terpineol (Indah, 2013). Kulit jeruk mengandung pektin dalam konsentrasi tinggi berkisar antara 15-25 % dari berat kering dan terdapat senyawa limonene 94% dalam kulit jeruk. Kulit jeruk mengandung vitamin C yang lebih banyak dibandingkan didalam buahnya. Inositol banyak terdapat pada kulit buah, 70-83 % kulit buah mengandung air, kulit jeruk juga mengandung carotenoid yang dapat memberikan warna kuning, orange, dan merah diantaranya xanthophyl, violaxanthin, lycopene. Pada waktu buah jeruk masak, klorofil sedikit demi sedikit menjadi hilang, carotenoid bertambah banyak sehingga warna berubah menjadi kuning, orange atau merah (Pracaya, 2010). Selain itu, pada bagian kulit jeruk manis juga mempunyai kandungan komponen fenolik seperti pektin dan tanin, senyawa antioksidan flavonoid dan mengandung atsiri (Friatna dkk, 2011). Kulit jeruk manis aktif sebagai antibakteri dan antioksidan (Wijiastuti, 2011).



**Gambar 2.1** Bagian-bagian pada jeruk (<http://www.citrusbr.com>).

Kulit buah jeruk *baby java* memiliki karakteristik kulit yang lebih tebal jika dibandingkan dengan kulit jeruk lain. Kulit buah jeruk *baby java* terbagi menjadi beberapa bagian yaitu bagian epicarp atau flavedo yang mengandung komponen

warna pada permukaan kulit dan mesocarp atau albedo yang merupakan bagian tengah antara kulit luar dan buah yang lembut dan berwarna putih (Rafiq *et al.*, 2016). Menurut Pracaya dalam bukunya yaitu “Jeruk Manis”, kandungan nutrisi, vitamin dan mineral seperti vitamin C, protein, amino nitrogen, kalsium, magnesium, kalium, belerang paling tinggi justru di bagian kulit jeruk dibandingkan pada dagingnya atau sari buah jeruk. Sedangkan, kandungan lemak dan gula lebih rendah pada kulit jeruk.

Senyawa khas yang sering ditemukan pada kulit jeruk yang dapat berperan sebagai antioksidan yaitu seperti hesperidin, narirutin, nobiletin yang termasuk dalam jenis senyawa flavonoid (Mahmoud *et al.*, 2012 ; Zhang *et al.*, 2016). Menurut Wulandari, Idawati dan Gusrizal (2013), berdasarkan penelitian tentang kandungan antioksidan pada kulit jeruk yang telah ada, pada ekstrak etanol kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) ditemukan senyawa flavonoid hesperidin dan naringin yang diketahui bersifat antikarsinogenesis dan antitumorigenesis (Pratiwi, dkk., 2008). Ekstrak aseton dari kulit jeruk mandarin (*Citrus reticulata*) mengandung flavonoid hesperidin dan narirutin (Tumbas *et.al.*, 2010). Flavonoid merupakan senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan. Golongan flavonoid yang bersifat antioksidan meliputi flavon, flavonol, isoflavon, kateksin, dan kalkon (Kumalaningsih, 2006). Selain itu, analisis fitokimia kulit jeruk manis (*Citrus sinensis*) dan lemon (*Citrus limon*) (Kumar *et.al.*, 2011) dengan menggunakan beberapa pelarut yang berbeda kepolaran menunjukkan adanya senyawa flavonoid, steroid, terpenoid, alkaloid, tanin dan saponin.

### 2.3 Minyak Atsiri pada Kulit Jeruk

Pada kulit jeruk, selain terdapat senyawa-senyawa bioaktif yang bermanfaat bagi tubuh, juga terdapat minyak atsiri yang memiliki banyak manfaat (Indah, 2013). Kulit jeruk mengandung minyak atsiri, atau dikenal juga sebagai minyak eteris (*aetheric oil*) banyak dimanfaatkan oleh industri kimia parfum, menambah aroma jeruk pada minuman dan makanan, serta di bidang kesehatan digunakan sebagai anti oksidan dan anti kanker (Muhtadin dkk., 2013). Minyak atsiri atau yang juga dapat disebut dengan *essensial oils*, *etherical oils*, atau *volatile oils* adalah senyawa yang mudah menguap yang tidak larut di dalam air dan merupakan ekstrak alami dari tanaman, baik yang berasal dari daun, bunga, kayu, biji-bijian, ataupun kulit buah (Kurniawan dkk., 2008). Minyak esensial jeruk mengandung 85-99% komponen volatil

dan 1-15% diantaranya tidak mudah menguap (K Fisher and Phillips, 2008). Senyawa aktif dalam minyak esensial sangat volatil dan labil terhadap oksigen, panas, atau cahaya (Muriel-Galet, *et al.*, 2015). Komponen yang mudah menguap adalah campuran dari monoterpen (seperti limonen) dan hidrokarbon sesquiterpene dan turunan oksigennya, termasuk aldehida, keton, asam, alkohol dan ester (Flamini, Tebano, & Cioni, 2007). Kegunaan minyak kulit jeruk cukup banyak, yaitu secara umum sebagai *flavouring* atau *fragrance agent* pada berbagai industri. Industri kosmetik menggunakan minyak kulit jeruk sebagai bahan pembuatan sabun, pasta gigi, shampo, losion, pembersih wajah, dan minyak wangi. Di industri farmasi, minyak kulit jeruk digunakan sebagai pembersih atau sterilisasi peralatan medis, perawatan kanker, antioksidan, dan obat jerawat. Minyak atsiri juga sering digunakan digunakan dalam aromaterapi termasuk untuk pijat sejak zaman kuno. Selain itu juga dapat digunakan sebagai *masking agent* terhadap bau yang tidak menyenangkan di tekstil, plastik dan cat industri (Lawless, 2002).

Proses ekstraksi minyak atsiri dapat ditempuh melalui 3 (tiga) cara, yaitu: (1) pengempaan (*pressing*), (2) ekstraksi menggunakan pelarut (*solvent extraction*), dan (3) penyulingan (*distillation*). Penyulingan merupakan metode yang paling sering digunakan untuk mendapatkan minyak atsiri. Kulit jeruk mengandung minyak atsiri yang terdiri dari berbagai golongan senyawa seperti terpen, sesquiterpen, aldehida, ester dan sterol. Kulit jeruk memiliki kandungan senyawa yang berbeda-beda, bergantung varietas, sehingga aromanya pun berbeda. Namun, senyawa yang dominan pada minyak atsiri adalah limonen ( $C_{10}H_{16}$ ). Kandungan limonen bervariasi untuk tiap varietas jeruk, berkisar antara 70-92% (Mizu, 2008). Minyak esensial juga dapat berfungsi sebagai agen antimikroba alami dalam makanan dan industri pengemasan (Calo *et al.*, 2015). Menurut Kamal *et al.* (2011), jumlah rendemen minyak atsiri dari kulit jeruk *Citrus sinensis* yang telah dikeringkan sebesar 0,24 - 1,07 g/100 g dengan menggunakan metode ekstraksi *hydro-distillation*. Sedangkan menurut Mercy *et al.* (2015), jumlah rendemen minyak atsiri dengan metode konvensional *steam distillation* yaitu sebesar 2,48% .

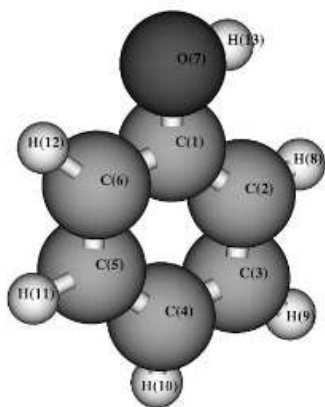


## 2.4 Senyawa fitokimia pada kulit jeruk

Senyawa fitokimia merupakan zat alami yang terdapat dalam tanaman yang memberikan cita rasa, aroma dan warna yang khas pada tanaman tersebut. Beberapa khasiat senyawa fitokimia tersebut berfungsi sebagai antioksidan, meningkatkan sistem kekebalan, mengatur tekanan darah, menurunkan kolesterol, serta mengatur kadar gula darah. Senyawa ini mempunyai manfaat bagi kesehatan, yang membuat tubuh lebih sehat dan lebih kuat. Menurut Astawan dan Kasih (2008) dalam Sayuti dan Yenrina (2015), beberapa senyawa fitokimia memiliki manfaat senyawa bagi kesehatan, seperti antikanker, antimikroba, antioksidan, anti inflamasi, mengatur tekanan darah, mengatur kadar gula darah, menurunkan kolestrol dan merangsang sistem imun. Beberapa senyawa yang termasuk senyawa fitokimia antara lain senyawa fenol, flavonoid, dan tanin (Harborne, 1987). Senyawa fitokimia ditemukan pada berbagai macam sayuran dan buah-buahan, salah satunya yaitu pada kulit jeruk. Menurut Amutha *et al.* (2017), dalam penelitiannya menyebutkan bahwa pada kulit jeruk ditemukan beberapa senyawa fitokimia seperti fenol dan flavonoid.

### 2.4.1 Fenol

Fenol adalah suatu senyawa yang berasal dari tumbuhan yang mempunyai ciri-ciri yaitu, cincin aromatik yang memiliki satu atau dua gugus hidroksil (-OH) yang terikat langsung dengan gugus senyawa aromatik hidrokarbonil (**Gambar 2.4**). Senyawa fenol memiliki sifat yang cenderung mudah larut dalam air karena seringkali berikatan dengan gula sebagai glikosida dan biasanya terdapat dalam vakuola sel. Dalam keadaan murni, senyawa fenol berupa zat yang tidak memiliki warna, namun jika teroksidasi akan berubah warna menjadi gelap. Senyawa fenolik yang ada pada tumbuhan dapat berupa fenol sederhana, antraquinon, asam fenolat, kumarin, flavonoid lignin dan tanin.



**Gambar 2.2** Struktur kimia fenol ( $C_6H_5OH$ ) (Rappoport, 2003).

Tanaman yang mengandung polifenol dalam jumlah besar dapat mempengaruhi aktivitas antioksidan (Kumalaningsih, 2006). Menurut Shahwar *et al.* (2010) senyawa golongan fenol diketahui sangat berperan terhadap aktivitas antioksidan, semakin besar kandungan senyawa golongan fenolnya maka akan semakin besar pula aktivitas antioksidannya. Menurut Harborne (1980), klasifikasi senyawa fenol pada tumbuh-tumbuhan dapat dilihat pada **Tabel 2.2**

**Tabel 2.2** Klasifikasi senyawa fenol pada tumbuh-tumbuhan (Harborne, 1980).

Jumlah atom karbon	Jumlah Siklus Fenol	Kelas	Contoh
6	1	Fenol sederhana, Benzoquinon	Cathechol, Hydroquinon
7	1	Asam Fenolik, Aldehid Fenolik	Gallik, Asam Salisisilik
8	1	Acetophenon, Tirosine, Asam Fenilalanin.	Asam-Hidroksifenilasetik, Tirosol
9	1	Asam Hidroksicinnamik, Fenilpropene, Koumarin, Isokoumarin, Khromone	Umbelliferone, Aeskuletin, Eugenol, Asam Ferulik, Bergenom, Euginin, Caffeic, Miriscitin
10	1	Naphthoquinon	Juglone, Plumbagin
13	2	Xantonoid	Mangiferin
14	2	Stilbenoid, Anthraquinon	Resveratol, Emodin
15	2	Chalkonoid, Neoflavonoid, Flavonoid, Isoflavonoid	Quercetin, Cyanidin, Genistein
18	2	Ligan, Neolignan	Pinoresinol, Eusiderin
30	4	Biflavonoid, Lignin, Katekol Melanin	Amentofavone
>30	>12	Flavolan (Tannin terkondensasi), Protein polifenik, polifenol	Raspberry ellagitannin, Asam Tannin

Pada kulit jeruk, jenis fenol yang sering ditemukan yaitu *caffeic*, *chlorogenic*, *ferulic*, *sinapic* dan *pcoumaric acid* (Tokusoglu and Hall, 2011). *Asam caffeic* merupakan zat yang ada pada semua tanaman, *asam caffeic* merupakan bahan kimia yang disebut hydrocinnamic acids dan merupakan bagian dari polifenol. *Caffeic acid* memiliki kegunaan yaitu sebagai antioksidan, zat ini dapat memperlambat stress oksidatif dalam tubuh dan melawan radikal bebas.

#### 2.4.2 Tanin

Tanin merupakan senyawa organik yang terdiri dari campuran senyawa polifenol kompleks, dibangun dari elemen C, H, dan O serta sering membentuk molekul besar dengan berat molekul lebih besar dari 2000 (Risnasari, 2001). Tanin disebut juga asam tanat dan asam galotanat. Tanin dapat tidak berwarna sampai berwarna kuning atau coklat. Tanin terdiri dari sekelompok zat – zat kompleks yang terdapat secara meluas dalam dunia tumbuh-tumbuhan, antara lain terdapat pada bagian kulit kayu, batang, daun dan buah – buahan. Ada beberapa jenis tumbuh-tumbuhan atau tanaman yang dapat menghasilkan tanin, antara lain: tanaman pinang, tanaman akasia, gabus, bakau, pinus dan gambir. Tanin adalah senyawa aktif metabolit sekunder yang diketahui mempunyai beberapa khasiat yaitu sebagai astringen, anti diare, anti bakteri dan antioksidan.

Tanin merupakan komponen zat organik yang sangat kompleks, terdiri dari senyawa fenolik yang sukar dipisahkan dan sukar mengkristal, mengendapkan protein dari larutannya dan bersenyawa dengan protein tersebut (Desmiaty *et al.*, 2008). Tanin dibagi menjadi dua kelompok yaitu tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi. Tanin memiliki peranan biologis yang kompleks mulai dari pengendap protein hingga pengkhelet logam. Tanin juga dapat berfungsi sebagai antioksidan biologis. Menurut Ismail (2010), fungsi dari senyawa tanin yaitu :

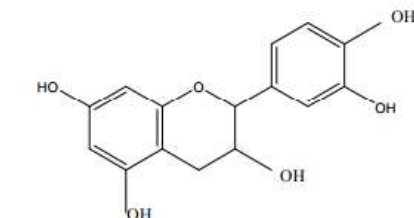
1. Sebagai pelindung pada tumbuhan pada saat massa pertumbuhan bagian tertentu pada tanaman
2. Sebagai anti hama bagi tanaman sehingga mencegah serangan dan fungi
3. Digunakan dalam proses metabolisme pada bagian tertentu tanaman

4. Pada industri farmasi, tanin digunakan sebagai anti septik pada jaringan luka, misalnya luka bakar yaitu dengan cara mengendapkan protein. Selain itu tanin juga digunakan untuk campuran obat cacing dan anti kanker
5. Pada industri kulit, tanin banyak dipergunakan karena kemampuannya mengikat bermacam – macam protein sehingga dapat mencegah kulit dari proses pembusukkan.
6. Tanin juga dipergunakan pada industri pembuatan tinta dan cat karena dapat memberikan warna biru tua atau hijau kehitam – hitaman dengan kombinasi – kombinasi tertentu
7. Tanin dapat berperan sebagai antidotum (keracunan alkaloid) dengan cara mengeluarkan asam tamak yang tidak terlarut
8. Pada industri minuman tanin juga digunakan untuk pengendapan serat – serat organik pada minuman anggur atau bir

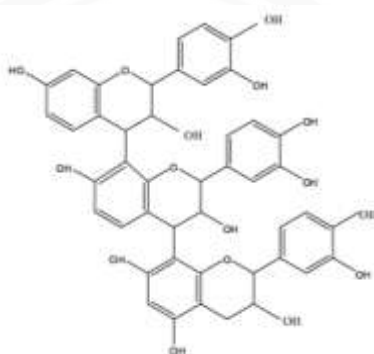
Berdasarkan strukturnya, tanin dibedakan menjadi dua kelas yaitu tanin terkondensasi (*condensed tannins*) dan tanin-terhidrolisis (*hydrolysable tannins*) (Manitto, 1992).

1. Tanin terhidrolisis biasanya berikatan dengan karbohidrat dengan membentuk jembatan oksigen, maka dari itu tanin ini dapat dihidrolisis dengan menggunakan asam sulfat atau asam klorida. Tanin terhidrolisis memiliki struktur molekul yang ditengah–tengahnya terdapat gugus karbohidrat (biasanya D-glukosa), merupakan hidroksil dari karbohidrat atau *phenolic esterified* seperti asam gallat (dalam gallotannin) atau asam ellagat (dalam ellagiatnnins). Tanin terhidrolisis yang dihidrolisis oleh asam lemah atau basa lemah menghasilkan karbohidrat dan asam fenolik.
2. Tanin terkondensasi dikenal sebagai proantosianidin yaitu merupakan polimer yang terdiri dari 2 sampai 50 (atau lebih) unit flavonoid yang tergabung dalam ikatan karbon-karbon yang tidak rentan terhadap hidrolisis. Tanin terkondensasi adalah produk polimerisasi flavan-3-ol dan flavan-3-4-diol atau campuran dari dua polimer, yang disebut dengan flavan. Proantosianidin merupakan polimer dari flavonoid yang dihubungkan melalui C8 dengan C4. Salah satu contohnya adalah Sorghum prosianidin, senyawa ini merupakan

trimer yang tersusun dari epikatekin dan katekin. Senyawa ini jika dikondensasi maka akan menghasilkan flavonoid jenis flavan dengan bantuan nukleofil berupa floroglusinol (Manitto, 1995).



Katekin



**Gambar 2.3** Struktur katekin dan prosianidin (Hagerman, 2002).

#### 2.4.3 Flavonoid

Senyawa-senyawa flavonoid adalah senyawa-senyawa polifenol yang mempunyai 15 atom karbon, terdiri dari dua cincin benzena yang dihubungkan menjadi satu oleh rantai linier yang terdiri dari tiga atom karbon (Doloksaribu, 2009). Flavonoid mengandung sistem aromatik yang terkonjugasi sehingga menunjukkan pita serapan yang kuat pada daerah spektrum sinar ultraviolet dan spektrum sinar tampak, umumnya dalam tumbuhan terikat pada gula yang disebut dengan glikosida (Harborne, 1996).

Flavonoid mempunyai dua cincin benzena yang dipisahkan oleh unit propan (Kumar and Pandey, 2103; Sulaiman and Balachandran, 2012). Senyawa-senyawa flavonoid terdiri dari beberapa jenis tergantung pada tingkat oksidasi dari rantai propan dari sistem 1,3-diarilpropana. Flavonoid dapat dibagi menjadi berbagai kelas seperti flavon (misalnya, flavon, apigenin, dan luteolin), flavonol (misalnya, quercetin,

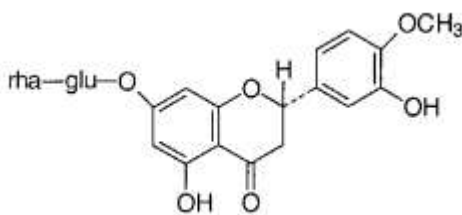


kaempferol, myricetin, dan fisetin), flavanon (misalnya, flavanon, hesperetin, dan naringenin), dan yang lain (Kumar and Pandey, 2013). Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa fenolik yang banyak terdapat pada jaringan tanaman dan dapat berperan sebagai antioksidan (Heim *et al.*, 2002). Aktivitas antioksidatif flavonoid bersumber pada kemampuan mendonasikan atom hidrogennya atau melalui kemampuannya mengkelat logam (Mishra *et al.*, 2013). Flavonoid terdapat dalam bentuk glukosida (mengandung rantai samping glukosa) atau dalam bentuk bebas yang disebut aglikon (Cuppert *et al.*, 1954 dalam Redha, 2010).

Salah satu sumber flavonoid yaitu dapat diperoleh dari kulit jeruk, hampir setiap jenis kulit jeruk memiliki kandungan flavonoid. Menurut Astawan (2008), pada kulit jeruk nipis ditemukan senyawa flavonoid yaitu naringin, hesperidin, naringenin, hesperitin, rutin, nobiletin, dan tangeretin. Sedangkan pada kulit jeruk keprok banyak mengandung senyawa polimetoksiflavan seperti tangeretin, nobiletin, sinensetin dan hesperetin (Nogata *et al.*, 2006). Pada kulit jeruk manis (*Citrus sinensis* L.) jenis flavonoid yang paling banyak ditemukan adalah hesperidin, neohesperidin dan narirutin (Londono *et al.*, 2010 ; Manthey and Grohmann, 1996).

#### 2.4.3.1 Hesperidin

Hesperidin (**gambar 2.4**) adalah salah satu jenis flavonoid yang paling banyak ditemukan pada kulit jeruk manis (*Citrus sinensis* L.) (Londono *et al.*, 2010). Hesperidin merupakan senyawa glikosida flavanon yang sering dimanfaatkan sebagai obat. Menurut Wilmsen *et al.* (2005), telah dilaporkan bahwa hesperidin memiliki sifat yaitu sebagai antialergi, antikarsinogenik, antihipertensi, antimikroba dan vasodilator. Hesperidin murni ditemukan dalam bentuk seperti jarum, berwarna coklat atau kuning pucat. Titik leleh dari hesperidin yaitu berkisar antara 258°C hingga 262°C. Memiliki rumus molekul yaitu  $C_{18}H_{34}O_{15}$  dan berat molekul sebesar 610,57 dalton. Hesperidin mudah larut dalam alkali encer dan pada piridin menghasilkan larutan kuning jernih, sedikit larut dalam metanol, asam asetat glasial panas dan hampir tidak larut dalam aseton, benzen dan kloroform. Hesperidin memiliki sifat untuk membentuk kristal kompleks dengan glikosida lain yang serupa, sehingga dapat mempengaruhi kelarutan dan sifat fisiknya, selain itu hal tersebut menyebabkan hesperidin sulit ditemukan dalam keadaan murni (Garg *et al.*, 2001).

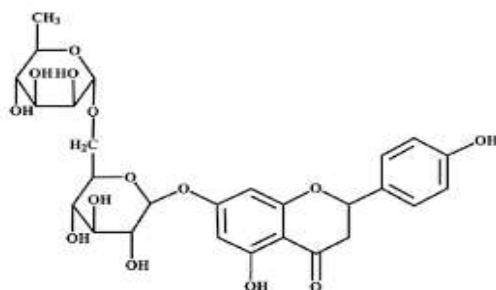


**Gambar 2.4** Struktur hesperidin (Garg *et al.*, 2001).

Hesperidin juga dilaporkan bahwa memiliki sifat sebagai antioksidan. Hal tersebut dikarenakan hesperidin dapat mengurangi superoksida dalam transfer proton-electron *in vitro* (Jovanovic *et al.*, 1994). Selain itu, kombinasi hesperidin dan diosmin dapat berfungsi sebagai antioksidan yang dapat memberikan efek terapi menguntungkan pada insufisiensi vena kronis dimana stress oksidatif terlibat pada mekanisme patologis (Bouskela *et al.*, 1997). Namun menurut Londono *et al.* (2010), aktivitas antioksidan dari hesperidin lebih rendah jika dibandingkan dengan bentuk aglikonnya yaitu hesperitin. Menurut Garg *et al.* (2001), pada sebagian besar penelitian yang sudah ada hesperidin ditemukan tidak aktif atau hanya cukup aktif sebagai antioksidan. Hesperidin juga ditemukan tidak dapat menghambat pembebasan oksigen reaktif dari neutrophil terstimulasi (Limasset *et al.*, 1993). Hal ini menunjukkan bahwa hesperidin nampaknya kurang berperan aktif menjadi antioksidan dibandingkan dengan sebagai besar flavonoid lainnya.

#### 2.4.3.2 Narirutin

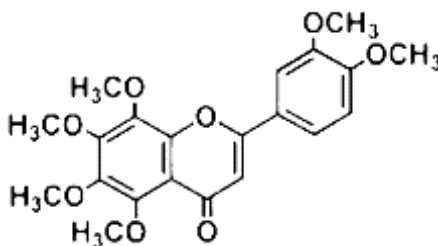
Narirutin (**gambar 2.5**) dan hesperidin merupakan flavanon glikosida utama yang ditemukan pada kulit jeruk manis (Kim *et al.*, 2007). Narirutin dikenal bahwa mempunyai aktivitas sebagai stimulasi oviposisi dan juga menunjukkan aktivitas antioksidan yang sama kuatnya dengan *butylated hydroxyanisole* (BHA) (Arvanitoyannis, 2008). Narirutin memiliki berat molekul sebesar 580,539 g/mol dan rumus molekul yaitu  $C_{27}H_{32}O_{14}$ . Senyawa ini memiliki sifat yaitu tidak mempunyai rasa (Peterson *et al.*, 2006).



**Gambar 2.5** Struktur Narirutin (Muriel, 2017).

#### 2.4.3.3 Nobiletin

Nobiletin (**gambar 2.6**) adalah senyawa flavonoid polimetoksi yang ada pada jaringan buah jeruk atau *citrus* yang memiliki struktur mirip dengan tangeretin. Nobiletin secara kimiawi dikenal sebagai 5,6,7,8,3', 4'-heksametoksiflavon adalah flavonoid *dietary polymethoxylated* yang ditemukan dalam buah jeruk (Huang *et al.*, 2016). Nobiletin memiliki struktur flavonoid yang khas dan mengandung 6 kelompok metoksil. Nobiletin murni memiliki bentuk seperti jarum, tidak berwarna dan memiliki rasa pahit. Memiliki berat molekul sebesar 402,399 g/mol dan rumus molekul  $C_{21}H_{22}O_8$ . Senyawa ini memiliki peran sebagai metabolit pada tumbuhan dan agen antineoplastik (Pub-chem, 2005). Telah dilaporkan bahwa nobiletin menunjukkan berbagai efek menguntungkan seperti antikanker, anti-inflamasi, antioksidan, resistensi antiinsulin (Lee *et al.*, 2011; Yoshigai *et al.*, 2013; Ihara *et al.*, 2012; Miyata *et al.*, 2011). Selain itu manfaat lain dari nobiletin yaitu dapat berfungsi sebagai antiosteoclastogenesis, imunomodulasi, perlindungan kardiovaskular, dan neuroproteksi (Tominari *et al.*, 2012; Li *et al.*, 2016; Parkar *et al.*, 2016; Zhang *et al.*, 2016).



**Gambar 2.6** Struktur Nobiletin (Morin *et al.*, 2008).

## 2.5 Antioksidan

Senyawa antioksidan adalah senyawa yang dapat menghambat pembentukan karsinogen dan menghalanginya menetap dalam tubuh. Antioksidan memiliki fungsi untuk menghentikan atau memutuskan reaksi berantai dari radikal bebas yang ada di dalam tubuh, sehingga dapat menyelamatkan sel-sel tubuh dari kerusakan akibat radikal bebas (Hernani dan Rahardjo, 2005). Senyawa ini dapat menghambat kerja radikal bebas dengan cara menyerahkan satu atau lebih elektronnya kepada radikal bebas sehingga membentuk molekul yang normal kembali dan menghentikan berbagai kerusakan yang dapat ditimbulkan. Antioksidan juga dapat dikatakan sebagai senyawa yang terdapat secara alami dalam bahan pangan. Senyawa ini berfungsi untuk melindungi bahan pangan dari kerusakan yang disebabkan terjadinya reaksi oksidasi lemak atau minyak yang sehingga bahan pangan yang berasa dan beraroma tengik.

Radikal bebas merupakan senyawa yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan dalam orbitalnya. Elektron-elektron yang tidak berpasangan tersebut dapat menyebabkan radikal bebas menjadi reaktif terhadap sel-sel tubuh dengan cara mengikat elektron molekul sel (Wijaya, 1996). Radikal bebas menyebabkan kerusakan sel dengan tiga cara yaitu:

1. Peroksidasi komponen lipid dari membran sel dan sitosol. Menyebabkan serangkaian reduksi asam lemak (otokatalisis) yang mengakibatkan kerusakan membran dan organel sel.
2. Kerusakan DNA, kerusakan DNA ini dapat mengakibatkan mutasi DNA bahkan dapat menimbulkan kematian sel.
3. Modifikasi protein teroksidasi oleh karena terbentuknya cross linking protein, melalui mediator sulfidril atas beberapa asam amino labil seperti sistein, metionin, lisin dan histidin.

Radikal bebas bersifat reaktif, dan jika tidak diinaktifkan akan merusak makromolekul pembentuk sel, yaitu protein, karbohidrat, lemak, dan asam nukleat, sehingga dapat menyebabkan penyakit degenerative. Reaksi dari radikal bebas pada tubuh tersebut dinamakan dengan reaksi oksidasi. Reaksi oksidasi yang berlebihan terhadap asam nukleat, protein, asam lemak, DNA sel pada tubuh manusia dapat

menimbulkan terjadinya penyakit degeneratif seperti jantung koroner, katarak, gangguan kognisi dan kanker.

Antioksidan bisa didapatkan secara alami pada bahan-bahan pangan seperti teh, rempah-rempah, bawang merah, coklat, sayuran, biji-biji sereal, dedaunan, dan sumber pangan yang banyak mengandung protein dan enzim. Pada umumnya, tumbuhan merupakan sumber senyawa antioksidan alami yang berupa senyawa fenolik, dimana senyawa ini terletak pada hampir seluruh bagian tumbuhan yaitu pada biji, daun, buah, kayu, bunga, serbuk sari maupun akar (Sarastani dkk., 2002).

Menurut Gordon (1990), antioksidan dapat digolongkan menjadi antioksidan primer (*Chainbreaking antioxidant*) dan antioksidan sekunder (*preventive antioxidant*). Antioksidan primer merupakan antioksidan yang dapat bereaksi dengan radikal lipid dan mengubahnya menjadi bentuk yang stabil. Antioksidan ini berfungsi untuk mencegah terbentuknya radikal bebas baru karena ia dapat merubah radikal bebas yang ada menjadi molekul yang berkurang dampak negatifnya yaitu sebelum sempat bereaksi. Antioksidan primer yang ada dalam tubuh yang sangat terkenal adalah enzim superoksida dismutase. Antioksidan primer dapat bereaksi dengan radikal lipid dan mengubahnya menjadi bentuk yang lebih stabil. Suatu senyawa dapat disebut sebagai antioksidan primer apabila senyawa tersebut dapat mendonorkan atom hidrogen ke radikal lipid secara cepat, dimana radikal antioksidan yang dihasilkan lebih stabil dari radikal lipid atau dapat diubah menjadi produk lain yang memiliki sifat lebih stabil (Gordon, 1990). Senyawa yang dapat digolongkan dalam kelompok antioksidan primer (*Chain-breaking antioxidant*) antara lain vitamin E (tokoferol), vitamin C (asam askorbat),  $\beta$ -karoten, glutathione dan sistein (Taher, 2003).

Antioksidan sekunder berfungsi sebagai antioksidan pencegah yaitu menurunkan kecepatan inisiasi dengan berbagai mekanisme, seperti melalui pengikatan ion-ion logam, penangkapan oksigen dan penguraian hidroperoksida menjadi produk-produk non-radikal (Gordon, 1990). Pada dasarnya tujuan antioksidan sekunder (*preventive antioxidant*) adalah mencegah terjadinya radikal yang paling berbahaya yaitu radikal hidroksil (Taher, 2003). Contoh antioksidan sekunder antara lain turunan-turunan asam fosfat, asam askorbat, senyawa karoten, sterol, fosfolipid dan produk-produk reaksi maillard (Gordon, 1990).

Antioksidan digunakan untuk mempertahankan mutu produk pangan serta kesehatan dan kecantikan. Pada bidang kesehatan dan kecantikan, antioksidan

berfungsi untuk mencegah penyakit kanker dan tumor, penyempitan pembuluh darah, penuaan dini, dan lain-lain (Tamat *et al.*, 2007). Antioksidan juga mampu menghambat reaksi oksidasi dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif sehingga kerusakan sel dapat dicegah. Reaksi oksidasi dengan radikal bebas sering terjadi pada molekul protein, asam nukleat, lipid dan polisakarida (Winarsi, 2007). Di bidang industri pangan, antioksidan dapat digunakan untuk mencegah terjadinya proses oksidasi yang dapat menyebabkan kerusakan, seperti ketengikan, perubahan warna dan aroma, serta kerusakan fisik lainnya (Tamat *et al.*, 2007). Antioksidan sangat penting sebagai inhibitor peroksidasi lipid sehingga bisa digunakan untuk mencegah terjadinya peroksidasi lipid pada bahan pangan.

#### 2.4.1 Mekanisme kerja antioksidan

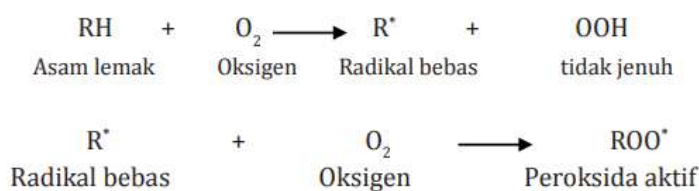
Proses penghambatan antioksidan berbeda-beda tergantung dari struktur kimia dan variasi mekanisme. Dalam mekanisme ini yang paling penting adalah reaksi dengan radikal bebas lipid, yang membentuk produk non-aktif. (Gordon, *et al.*, 2001). Antioksidan dapat menghentikan proses perusakan sel dengan cara memberikan elektron kepada radikal bebas. Antioksidan akan menetralkan radikal bebas sehingga tidak mempunyai kemampuan lagi mencuri elektron dari sel dan DNA. Mekanisme antioksidan dalam menghambat oksidasi atau menghentikan reaksi berantai pada radikal bebas dari lemak yang teroksidasi, dapat disebabkan oleh 4 (empat) macam mekanisme reaksi yaitu (Sayuti dan Yenrina, 2015) :

- a. Pelepasan hidrogen dari antioksidan
- b. Pelepasan elektron dari antioksidan
- c. Adisi asam lemak ke cincin aromatik pada antioksidan.
- d. Pembentuk senyawa kompleks antara lemak dan cincin aromatik dari antioksidan.

Menurut Sayuti dan Yenrina (2015), prinsip kerja dari pada antioksidan dalam menghambat autooksidasi pada lemak dapat dilihat sebagai berikut :

Oksigen bebas di udara akan mengoksidasi ikatan rangkap pada asam lemak yang tidak jenuh. Kemudian radikal bebas yang terbentuk akan beraksi dengan oksigen sehingga akan menghasilkan peroksida aktif (**Gambar 2.7**).





**Gambar 2.7** Mekanisme terbentuknya peroksida aktif (Sayuti dan Yenrina, 2015).

Apabila dalam suatu asam lemak yang terdapat dalam minyak tidak mengandung antioksidan, maka peroksida aktif akan bereaksi dengan ikatan rangkap lemak. Apabila ditambah suatu antioksidan, maka peroksida aktif akan bereaksi dengan antioksidan tersebut. Sehingga pembentukan radikal bebas dapat dihentikan dengan penambahan suatu antioksidan.

Mekanisme kerja antioksidan dalam tubuh manusia yaitu dengan cara mengurangi stress oksidatif. Menurut Werdhasari (2014), antioksidan sangat diperlukan untuk mencegah stress oksidatif. Stress oksidatif adalah kondisi ketidakseimbangan antara jumlah radikal bebas yang ada dengan jumlah antioksidan di dalam tubuh. Pada kondisi ini, aktivitas molekul radikal bebas atau *reactive oxygen species* (ROS) dapat menimbulkan kerusakan seluler dan genetika yang dapat menimbulkan penyakit seperti penyakit kardiovaskular. Pada penyakit kardiovaskular, stress oksidatif yang diinduksi oleh ROS menjadi kunci utama penyebab terjadinya penyakit ini. Stress oksidatif dapat menyebabkan perubahan permeabilitas membran, gangguan membran lipid bilayer dan modifikasi fungsional dari berbagai protein seluler; kelainan pada fungsi miosit karena efek meningkatnya ROS pada organel subseluler (Valko *et al.*, 2007). Disfungsi endotel adalah salah satu penyebab utama penyakit kardiovaskular, namun selain itu diyakini bahwa oksidasi LDL, kehilangan oksida nitrat dan inflamasi vaskular karena stress oksidatif juga menjadi penyebab berkurangnya potensi terapi antioksidan untuk memperbaiki disfungsi endotel. Jenis antioksidan seperti vitamin dapat meningkatkan kadar oksida nitrat endotel dan menghambat peradangan vaskular, peroksidasi lipid, agregasi trombosit, oksidasi LDL sehingga dapat bermanfaat untuk mencegah disfungsi endotel. Sedangkan jenis antioksidan seperti flavanon, flavanol, flavon, isoflavon, asam fenolik dapat mengurangi terjadinya stress oksidatif dengan cara mempengaruhi berbagai aktivitas seluler, yaitu menghambat oksidasi lipid, meningkatkan kapasitas antioksidan plasma, mengurangi agregasi trombosit, pengurangan kadar lipid plasma, menghambat radikal

bebas, reduksi dalam generasi ROS intraseluler, induksi GSH, peningkatan bioavailabilitas oksida nitrat, dan pengurangan produksi matriks metalloproteinase (Sen and Chakraborty, 2011).

#### 2.4.2 Pengujian aktivitas senyawa antioksidan

Untuk menguji senyawa antioksidan pada suatu bahan, maka dapat dilakukan suatu uji aktivitas antioksidan salah satunya yaitu menggunakan metode DPPH. DPPH adalah radikal bebas yang memiliki sifat stabil pada suhu kamar dan sering digunakan untuk menilai aktivitas antioksidan beberapa senyawa atau ekstrak bahan alam. Prinsip uji DPPH yaitu penghilangan warna untuk mengukur kapasitas antioksidan yang langsung menjangkau radikal bebas DPPH dengan pemantauan absorbansi pada panjang gelombang 517 nm menggunakan spektrofotometer. Radikal DPPH dengan nitrogen organik terpusat merupakan radikal bebas stabil dan memiliki warna ungu gelap yang ketika direduksi menjadi bentuk nonradikal antioksidan yang berwarna kuning (Yu, 2008). Perubahan warna ini dapat terjadi jika semua elektron pada radikal bebas DPPH menjadi berpasangan sehingga warna larutan berubah dan absorbansi pada panjang gelombang 517 nm akan hilang (Fathurrachman, 2014).

Pada metode DPPH, aktivitas antioksidan dinyatakan dengan *Inhibitory Concentration* atau  $IC_{50}$ .  $IC_{50}$  adalah bilangan yang menunjukkan konsentrasi ekstrak yang mampu menghambat aktivitas DPPH sebesar 50%, jika semakin kecil nilai  $IC_{50}$  maka makin tinggi aktivitas antioksidan. Nilai AAI (*Antioxidant Activity Index*) merupakan nilai yang menunjukkan besarnya aktivitas antioksidan yang dimiliki oleh suatu bahan uji atau ekstra. Nilai AAI dapat diperoleh dengan cara konsentrasi DPPH yang digunakan dalam uji (ppm) dibagi dengan nilai  $IC_{50}$  yang diperoleh (ppm). Jika nilai AAI yang diperoleh yaitu  $< 0,5$  maka hal tersebut berarti bahwa aktivitas antioksidan lemah, jika nilai AAI  $> 0,5 - 1$  menandakan bahwa aktivitas antioksidan sedang, nilai AAI  $> 1 - 2$  menandakan bahwa aktivitas antioksidan kuat, dan nilai AAI  $> 2$  menandakan bahwa aktivitas antioksidan sangat kuat (Helio *et al.*, 2010).

## 2.6 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Dalam proses ekstraksi, terjadi penggumpalan ekstrak dalam pelarut yang selanjutnya terjadi kontak antara bahan dan pelarut sehingga menyebabkan pengendapan massa dengan cara difusi pada bidang antarmuka bahan ekstraksi dan pelarut yang digunakan. Ekstraksi menggunakan pelarut didasarkan pada kelarutan komponen terhadap komponen lainnya dalam campuran (Komara, 1991). Senyawa yang memiliki sifat polar akan larut pada larutan yang juga memiliki sifat polar, sedangkan senyawa yang bersifat non-polar akan larut pada pelarut non-polar. Menurut Maulida dan Zulkarnaen (2010), proses pemisahan selama ekstraksi terdiri dari tiga langkah dasar, yaitu :

1. Proses pencampuran sejumlah massa bahan ke dalam larutan yang akan dipisahkan komponennya.
2. Proses pembentukan fase seimbang
3. Proses pemisahan kedua fase seimbang

Menurut Darwin (2000), terdapat beberapa metode ekstraksi senyawa organik bahan alam yang sering digunakan, yaitu :

### 2.6.1 Maserasi

Maserasi adalah proses ekstraksi dengan cara perendaman sampel pelarut organik pada suhu ruangan. Proses ini sangat berguna untuk isolasi senyawa bahan alam karena melalui perendaman sampel tumbuhan akan terjadi pemecahan dinding sel dan membran sel yang disebabkan oleh perbedaan tekanan di daerah luar dan dalam sel sehingga metabolit sekunder yang ada pada sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik dan ekstraksi senyawa akan sempurna karena dapat diatur lama perendaman yang akan dilakukan. Pada proses ini pelarut organik akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif dan zat aktif akan larut. Simplisia yang akan diekstraksi pada metode ini ditempatkan pada suatu bejana atau wadah yang bermulut lebar bersama dengan pelarut organik yang telah ditetapkan, wadah atau bejana tersebut kemudian ditutup dengan rapat yang

kemudian dikocok berkali-kali sehingga memungkinkan pelarut masuk ke seluruh permukaan simplisia. Waktu maserasi yang umum dilakukan yaitu sekitar 5 hari, setelah waktu tersebut keseimbangan antara bahan yang diekstraksi pada bagian dalam sel dengan luar sel telah tercapai. Keuntungan dari metode maserasi adalah prosedur dan peralatannya sederhana (Agoes, 2007). Sedangkan kerugian menggunakan metode maserasi adalah pengerjaannya lama dan penyaringan kurang sempurna (Depkes RI, Darwis. D, 2000).

### **2.6.2 Perkolasi**

Perkolasi merupakan metode ekstraksi yang dilakukan dengan cara mengalirkan cairan penyari melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi. Pada proses ini senyawa organik akan terbawa bersama-sama pelarut. Prinsip perkolasi adalah serbuk simplisia ditempatkan dalam suatu bejana silinder, yang bagian bawah diberi sekat berpori. Cairan penyari dialirkan dari atas ke bawah melalui serbuk tersebut, cairan penyari akan melarutkan zat aktif dari sel-sel yang dilalui sampai mencapai keadaan jenuh. Gerak ke bawah disebabkan oleh kekuatan gaya beratnya sendiri dan cairan di atasnya, dikurangi dengan daya kapiler yang cenderung untuk menahan. Efektifitas dari proses ini akan lebih besar untuk senyawa organik yang sangat mudah larut dalam pengeksrak yang digunakan (Darwin, 2000). Kelemahan dari metode ini adalah proses ekstraksi dapat berjalan lambat dan membutuhkan jumlah pelarut yang banyak (Walton and Brown, 1999).

### **2.6.3 Sokhletasi**

Sokhlet merupakan suatu alat untuk menyempurnakan proses ekstraksi. Pada metode ini uap dari pelarut organik akan naik melalui pipa samping dan diembunkan kembali melalui pendingin tegak. Kemudian cairan akan turun ke dalam labu melalui tabung berisi simplisia. Metode ini sangat baik digunakan untuk senyawa yang tidak mudah terpengaruh panas. Keuntungan utama dari metode ini adalah waktu dan pelarut yang dibutuhkan lebih sedikit jika dibandingkan dengan maserasi dan perkolasi. Namun kelemahannya adalah pada ekstraksi ini yaitu ekstrak terus mengalami proses pemanasan hingga pada titik didih dari pelarut yang digunakan, hal

ini dapat merusak senyawa-senyawa yang tidak tahan panas (Sarker *et al.*, 2006). Selain itu, pada metode ini sampel yang ideal untuk digunakan juga terbatas yaitu hanya sampel kering dan sampel padat yang benar-benar halus (Azwanida, 2015).

## 2.7 Pelarut etanol

Etanol merupakan suatu senyawa alkohol yang dapat dijadikan sebagai pelarut dalam proses ekstraksi. Menurut Hasanah, (Aliya dan Fikri, 2011 dalam Huda 2014), pelarut (solven) adalah zat yang berfungsi untuk melarutkan dan memisahkan zat terlarut (solute) dari material yang memiliki kelarutan lebih rendah daripada pelarut. Pelarut yang sering digunakan dalam proses ekstraksi adalah aseton, nheksan, etilen diklorida, isopropil alkohol, etanol dan metanol. Etanol atau etil alkohol ( $C_2H_5OH$ ) termasuk kelompok hidroksil yang memberikan polaritas pada molekul dan mengakibatkan meningkatnya ikatan hidrogen intermolekuler. Etanol memiliki sifat yaitu titik didih  $78,4^{\circ}C$  dan titik beku pada  $-112^{\circ}C$ . Pelarut etanol dapat bercampur dengan air, volatil dan memiliki sifat tidak berwarna (Hart, 2003). Sifat lain dari etanol yaitu transparan, mudah terbakar, dan mudah menguap (Huda, 2014).

Etanol dipertimbangkan sebagai pelarut pada proses ekstraksi karena sifatnya yang lebih selektif, tidak beracun, netral, absorbsinya baik, selain itu etanol dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan dan panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit. Etanol memiliki titik didih yang lebih rendah jika dibandingkan dengan isopropil alkohol namun lebih tinggi jika dibandingkan dengan metanol. Gugus OH yang terdapat pada etanol dapat membantu melarutkan molekul polar dan ion-ion serta gugus alkilnya  $CH_3CH_2^-$  dapat mengikat bahan non-polar yang menyebabkan etanol dapat melarutkan baik senyawa polar maupun non-polar (Thoha, 2009). Menurut (Solomons 1990, dalam Ashad 2016), sifat-sifat dari etanol yaitu:

1. Mudah menguap dan mudah terbakar.
2. Salah satu pelarut yang baik dalam melarutkan senyawa – senyawa organik.
3. Bila direaksikan dengan asam karboksilat akan menghasikan dan membentuk ester dan air.
4. Bila direaksikan dengan asam halida akan membentuk alkil halida dan air.

## 2.8 LC-MS

LC-MS (*Liquid Chromatography-Mass Spectrometry*) adalah suatu teknik analisa yang menggabungkan antara pemisahan fisik yang menggunakan kromatografi cair dan deteksi massa menggunakan spektrometri massa (Parasuraman *et al.*, 2014). Kromatogram cair (LC) berfungsi untuk memisahkan komponen sampel dan kemudian dibawa ke spektrometer massa (MS). Spektrometer massa berfungsi untuk menciptakan dan mendeteksi ion bermuatan. Data yang didapatkan dari analisa LC-MS dapat digunakan untuk memberikan informasi tentang berat molekul, struktur, identitas dan kuantitas komponen tertentu dari sampel (Packard-Hewlett, 1998). Cara kerja dari LC-MS yaitu, sampel yang akan dianalisa awalnya akan melalui kromatografi cair terlebih dahulu untuk dipisahkan antara satu komponen dengan yang lainnya. Kemudian komponen yang telah dipisahkan tersebut disemprot menggunakan sumber ion tekanan atmosfer dimana komponen tersebut agar berubah menjadi ion dalam bentuk gas (Korfmacher, 2005). Salah satu teknik ionisasi yang paling sering digunakan pada LC-MS yaitu *electrospray ionisation* (ESI). Sampel yang berupa cairan akan dipompa melalui kapiler dan diubah menjadi tetesan yang berukuran sangat kecil. Lalu tetesan tersebut diubah menjadi fase gas yang dibantu oleh panas dan nitrogen. Pada proses ini, muatan listrik dari tetesan tersebut akan berpindah ke molekul yang ingin dideteksi. Selanjutnya, spektrometri massa akan melakukan seleksi pada molekul yang ingin dideteksi, pendeteksian molekul ini berdasarkan rasio massa terhadap muatan (mass-to-charge ratio,  $m/z$ ) dari masing-masing molekul. Molekul dengan rasio  $m/z$  yang tidak diinginkan kemudian akan dihilangkan, sedangkan molekul atau analit dengan  $m/z$  rasio yang diinginkan akan diteruskan ke detektor. Detektor akan menghasilkan puncak-puncak apabila molekul yang diinginkan terdapat pada sampel (Packard-Hewlett, 1998; Pitt, 2009).



## BAB III METODOLOGI PENELITIAN

### 3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dimulai pada bulan Desember 2017 sampai dengan Juli 2018 dan dilaksanakan pada beberapa tempat, yaitu:

1. Laboratorium Pengolahan Pangan, THP-UB
2. Laboratorium Kimia dan Biokimia Pangan, THP-UB
3. Laboratorium Kimia Polinema

### 3.2 Bahan dan Alat

#### 3.2.1 Bahan

Bahan yang digunakan adalah kulit jeruk *baby java* (*Citrus sinensis* L. Osbeck) yang diperoleh dari petani di Desa Selorejo Kota Malang dengan karakteristik warna hijau-kuning, etanol 90%, etanol 85%, etanol 80%, akuades, metanol, DPPH (*diphenyl picrylhy drazyl*) 0,2 mM, asam tanat standar, follin-ciaocalteau,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , asam galat standar, quercetin,  $\text{NaNO}_2$  20% 2,9 M, larutan  $\text{AlCl}_3$  10% 0,8 M, NaOH.

#### 3.2.2 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu tabung reaksi, pipet volume, gelas ukur, blender, erlenmeyer, kertas saring, loyang, *shaker water bath*, alumunium foil, pengering *cabinet*, timbangan digital, tissue, ayakan 80 mesh, shaker water bath, penyaring vakum, *rotary vacuum evaporator*, spektrofotometer (UV-VIS), alat semprot nitrogen, kompor, pisau, alumunium foil, corong plastik, cawan petri, desikator, spatula, bulb, labu ukur, pipet tetes, rak tabung reaksi, *vortex*, oven listrik.

### 3.3 Metode Penelitian

Penelitian ini disusun secara faktorial yang dirancang dengan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 2 faktor. Faktor I merupakan konsentrasi etanol yang terdiri dari 3 level yaitu etanol 80%, etanol 85% dan etanol 90%. Sedangkan untuk faktor II yang merupakan lama waktu ekstraksi yang terdiri dari 3 level yaitu 12 jam, 24 jam, dan 36 jam. Dari kombinasi kedua faktor tersebut, didapatkan 9 kombinasi perlakuan dengan 3 kali ulangan sehingga diperoleh sebanyak 27 perlakuan.

Faktor I : Konsentrasi etanol (%)

K1 = 80%

K2 = 85%

K3 = 90%

Faktor II : Lama Waktu Ekstraksi (jam)

E1 = 12 jam

E2 = 24 jam

E3 = 36 jam

Dari kedua faktor tersebut, diperoleh kedua kombinasi perlakuan sebagai berikut :

**Tabel 3.1 Perlakuan sampel ekstrak kulit jeruk *baby java***

Konsentrasi pelarut	Lama waktu ekstraksi		
	12 jam (E1)	24 jam (E2)	36 jam (E3)
80% (K1)	K1E1	K1E2	K1E3
85% (K2)	K2E1	K2E2	K2E3
90% (K3)	K3E1	K3E2	K3E3

K1E1 : Konsentrasi etanol 80% dan waktu ekstraksi 12 jam

K2E1 : Konsentrasi etanol 85% dan waktu ekstraksi 12 jam

K3E1 : Konsentrasi etanol 90% dan waktu ekstraksi 12 jam

K1E2 : Konsentrasi etanol 80% dan waktu ekstraksi 24 jam

K2E2 : Konsentrasi etanol 85% dan waktu ekstraksi 24 jam

K3E2 : Konsentrasi etanol 90% dan waktu ekstraksi 24 jam

K1E3 : Konsentrasi etanol 80% dan waktu ekstraksi 36 jam

K2E3 : Konsentrasi etanol 85% dan waktu ekstraksi 36 jam

K3E3 : Konsentrasi etanol 90% dan waktu ekstraksi 36 jam

### 3.4 Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini dibagi menjadi 2 tahap yaitu :

#### 3.4.1 Pembuatan bubuk kulit jeruk *baby java*

Tahapan ini bertujuan untuk menghasilkan bubuk dari kulit jeruk *baby java*.

Proses dari pembuatan bubuk kulit jeruk *baby java* adalah sebagai berikut:

1. Kulit dari jeruk *baby java* segar dibersihkan dengan air hingga kotoran dan debu yang menempel pada kulit hilang
2. Lalu kulit jeruk *baby java* dipotong kecil-kecil dengan ukuran seragam dan kemudian dicuci
3. Ditiriskan hingga dingin
4. Setelah dingin, kulit jeruk *baby java* dikeringkan pada *cabinet dryer* dengan suhu 55°C selama 8 jam
5. Kulit jeruk *baby java* dihancurkan menggunakan blender kering
6. Dilakukan pengayakan menggunakan ayakan ukuran 80 mesh. Hal ini bertujuan untuk menyamakan ukuran partikel dari bubuk kulit jeruk *baby java*
7. Didapatkan hasil berupa bubuk kulit jeruk *baby java* dan dilakukan analisa

#### 3.4.2 Proses ekstraksi bubuk kulit jeruk *baby java*

Tahapan ini bertujuan untuk menghasilkan ekstrak kulit jeruk *baby java*.

Proses pembuatan ekstrak kulit jeruk *baby java* adalah sebagai berikut :

1. Bubuk kulit jeruk *baby java* yang sudah jadi ditimbang sebanyak 10 gram menggunakan timbangan analitik
2. Bubuk kulit jeruk *baby java* dicampur dengan pelarut etanol dengan konsentrasi 80% 1:10 (b/v), 85% 1:10 (b/v) dan 90% 1:10 (b/v)
3. Dilakukan proses ekstraksi dengan metode maserasi selama 12, 24, dan 36 jam pada *shaker water bath* dengan suhu 40°C.
4. Setelah itu disaring dengan penyaring vakum
5. Filtrat diambil dan diuapkan dengan rotary evaporator dengan suhu 40°C selama 120 menit (tekanan 200 mbar, kecepatan 60 rpm). Proses ini bertujuan untuk menguapkan pelarut etanol.
6. Disemprot gas N<sub>2</sub> yang berfungsi untuk memaksimalkan penguapan pelarut etanol supaya tidak ada pelarut yang tersisa.
7. Didapatkan hasil ekstrak kulit jeruk *baby java* dan dilakukan analisa

### 3.5 Parameter Penelitian

Pengamatan yang dilakukan terhadap ekstrak kulit jeruk *baby java* merupakan pengamatan terhadap senyawa bioaktif yang dapat dihasilkan dari kulit jeruk *baby java*. Parameter yang diamati adalah yang berkaitan dengan seberapa besar kandungan senyawa bioaktif pada kulit jeruk *baby java* yang dapat berperan sebagai antioksidan. Analisa yang dilakukan terhadap bubuk dan ekstrak kulit jeruk *baby java* meliputi:

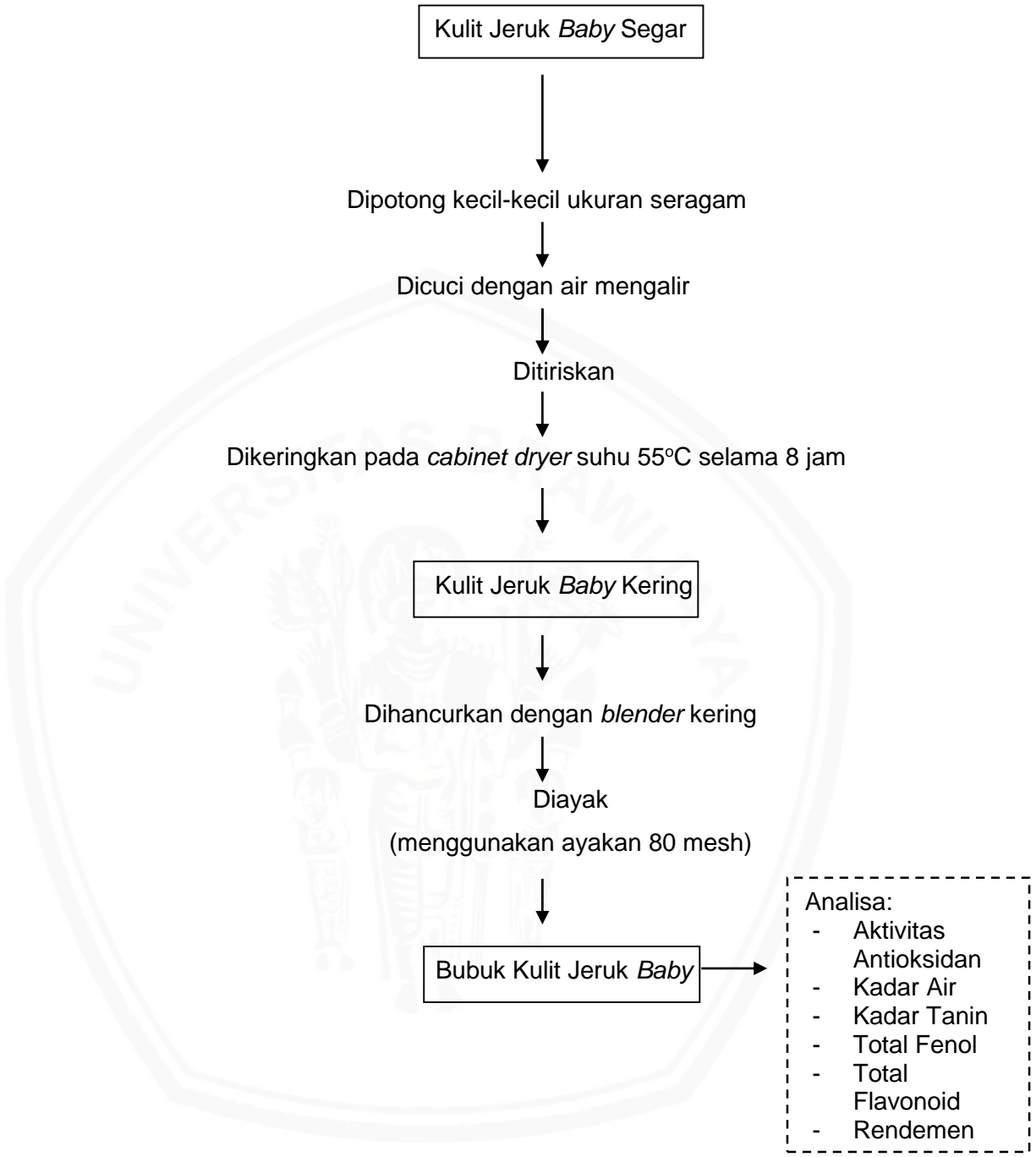
- Aktivitas antioksidan metode DPPH IC<sub>50</sub> (Molyneux, 2004; Pinela *et al.*, 2012).
- Kadar Air metode Gravimetri/Oven untuk analis bahan kulit jeruk *baby java* (AOAC, 1996; Wrosted *et al.*, 2005).
- Kadar Tanin (AOAC, 1995).
- Total Fenol (Sharma, 2011).
- Total Flavonoid (Modifikasi Li *et al.*, 2007).
- Rendemen (AOAC, 1984).

### 3.6 Analisa Data

Analisa data dilakukan dengan metode *Analysis of Variance* (ANOVA) menggunakan program Minitab 17 untuk mengetahui apakah ada perbedaan atau pengaruh pada tiap perlakuan terhadap parameter yang diuji. Uji lanjut dilakukan dengan menggunakan uji Tukey pada selang kepercayaan 95%. Pemilihan perlakuan terbaik dilakukan dengan metode *Zeleny*.

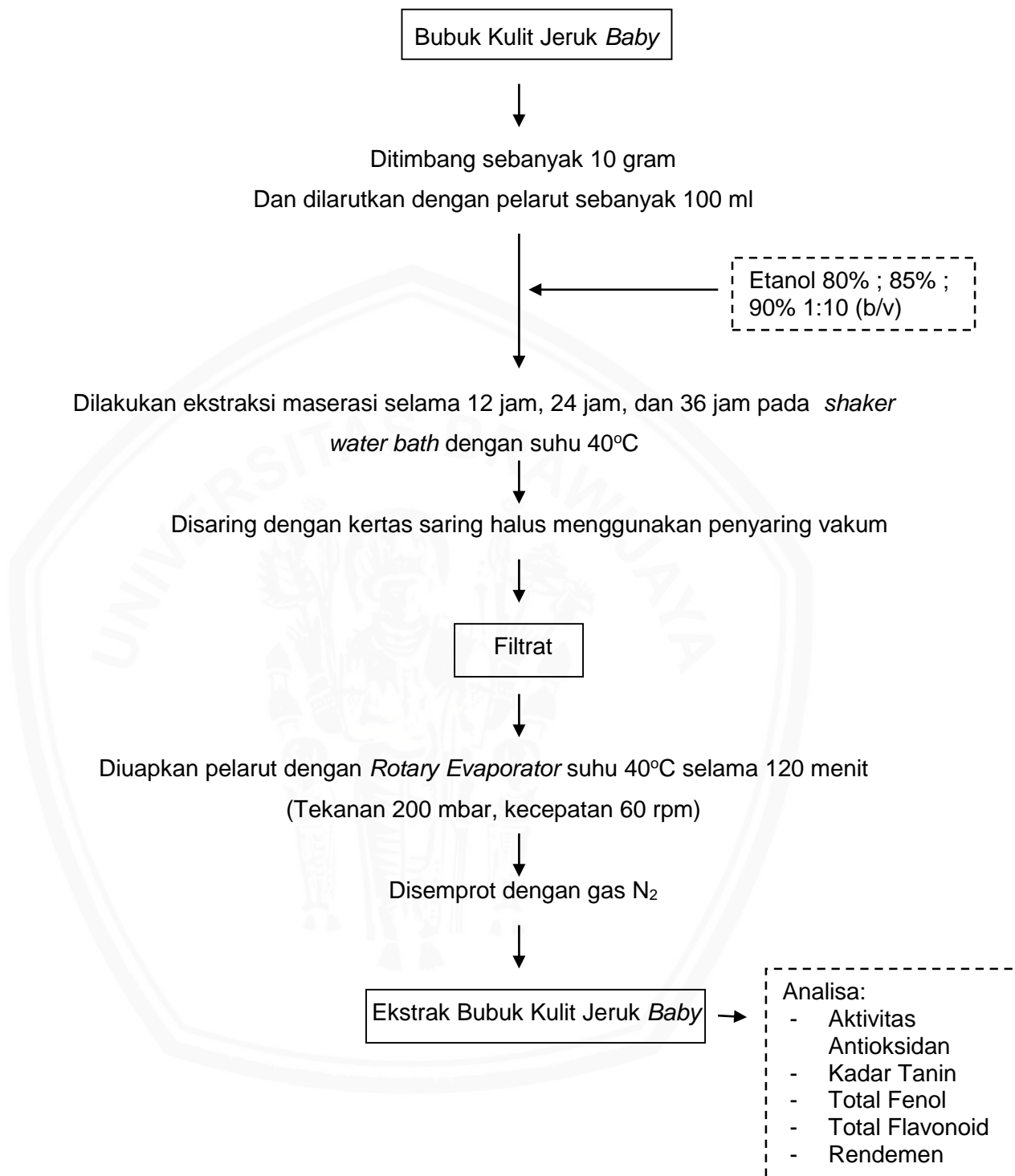
### 3.7 Diagram Alir

#### 3.7.1 Diagram Alir Pembuatan Bubuk Kulit Jeruk *Baby*



**Gambar 3.1** Diagram Alir Proses Pembuatan Bubuk Kulit Jeruk *Baby java*  
(Modifikasi metode Rao *et al.*, 2011).

### 3.7.2 Diagram Alir Proses Ekstraksi Bubuk Kulit Jeruk *Baby*



**Gambar 3.2** Diagram Alir Proses Pembuatan Ekstraksi Kulit Jeruk *Baby java*  
(Modifikasi Philip *et al.*, 2009).



## BAB IV

## HASIL DAN PEMBAHASAN

## 4.1 Karakteristik Bahan Baku

Pada proses ekstraksi kulit jeruk *baby java* ini, kulit jeruk *baby java* segar diubah menjadi bentuk bubuk sebelum dilakukan proses ekstraksi. Tujuan dari pengubahan bentuk ini adalah untuk memperkecil ukuran jeruk *baby java* agar pada saat proses ekstraksi, proses pengekstrasian lebih mudah terjadi karena dengan semakin kecilnya bentuk ukuran bahan maka luas permukaannya akan semakin luas sehingga proses ekstraksi akan semakin mudah. Dengan pengubahan bentuk ini akan membuat kandungan yang terekstrak dari kulit jeruk *baby java* akan semakin banyak. Parameter bahan baku serbuk yang dianalisa meliputi kadar air, rendemen, total fenol, kadar flavonoid, kadar tanin, dan aktivitas antioksidan IC50.

**Tabel 4.1** Karakteristik bubuk kulit jeruk *baby java*

Karakteristik	Bubuk kulit jeruk <i>baby java</i>	
	Hasil analisa	Literatur
Total fenol (mg GAE/g)	0,50 ± 0,05	9,40 ± 0,01 <sup>a</sup>
Total flavonoid (mg QE/g)	0,20 ± 0,02	4,20 ± 0,02 <sup>a</sup>
Kadar Tanin (mg/g)	2,59 ± 0,07	7,43 ± 2,8 <sup>b</sup>
Aktivitas antioksidan (mg/L)	626,95 ± 25,85	-
Rendemen (%)	36,06 ± 0,61	-
Kadar air (%)	15,25 ± 0,21	9,68 ± 0,07 <sup>c</sup>

1. Setiap data merupakan rerata 3 kali ulangan

2. Nilai dinyatakan sebagai rata-rata ± standar deviasi

<sup>a</sup> : Omoba *et al.* (2015)

<sup>b</sup> : Rathod and Annapure, (2017)

<sup>c</sup> : Egbunu and Osuji, (2016)

**Tabel 4.1** menunjukkan bahwa terdapat perbedaan antara hasil dari analisis bahan baku dengan hasil dari literatur. Perbedaan hasil dapat disebabkan oleh metode dan jenis jeruk yang digunakan pada penelitian dan hasil literatur berbeda. Pada penelitian ini, metode analisa bahan baku dilakukan dengan cara melarutkan bubuk kulit jeruk *baby java* ke dalam metanol yang diletakkan pada *magnetic stirrer* selama 2 jam. Singkatnya waktu ekstraksi tersebut diduga menyebabkan hasil dari senyawa bioaktif yang terekstrak kurang optimal dan lebih rendah dibandingkan hasil

dari literatur. Dikarenakan masih terbatasnya literatur tentang karakteristik bubuk kulit jeruk baby java (*Citrus sinensis* L. Osbeck), maka jenis jeruk yang digunakan sebagai pembandingan dengan hasil analisa yaitu berbeda, hal tersebut dapat membuat perbedaan hasil antara analisa dan literatur dikarenakan kandungan senyawa pada setiap kulit jeruk berbeda.

Berdasarkan hasil analisis dari bubuk kulit jeruk *baby java* menghasilkan total fenol sebesar 0,50 mg GAE/g, sedangkan dari hasil literatur didapatkan total fenol sebesar 9,40 mg GAE/g. Faktor lain yang dapat menjadi penyebab terjadinya perbedaan total fenol dari hasil analisa dan literature selain metode analisa dna jenis jeruk adalah suhu pengeringan yang digunakan saat mengeringkan kulit jeruk, pada proses analisa ini kulit jeruk dikeringkan menggunakan *cabinet oven* dengan suhu 55°C sedangkan pada penelitian yang dilakukan oleh Omoba (2015), dimana hasil penelitiannya tersebut dijadikan sebagai literatur penelitian ini, menggunakan *ventilated oven* dengan suhu 40°C untuk mengeringkan kulit jeruk sebelum dijadikan menjadi bentuk bubuk. Dari perbedaan suhu tersebut dapat dilihat bahwa suhu pengeringan yang digunakan pada penelitian ini lebih tinggi jika dibandingkan dengan suhu dari literatur, dan hal tersebut mungkin menjadi penyebab mengapa kadar fenol pada kedua bahan tersebut berbeda. Fenol merupakan salah satu senyawa yang sangat sensitif, tidak stabil dan sangat rentan terhadap degradasi, degradasi tersebut dapat dipengaruhi oleh temperatur, kandungan oksigen dan cahaya (Vatai *et al.*, 2009). Menurut Mediani *et al.* (2014) perlakuan panas mungkin dapat menyebabkan terjadinya degradasi senyawa fenol dari tanaman tersebut. Penelitian lain yang dilakukan oleh Chen *et al.* (2011) menunjukkan bahwa kulit jeruk *baby java* (*Citrus sinensis* L. Osbeck) yang dikeringkan menggunakan suhu 50°C dan 60°C mengalami penurunan total fenol dibandingkan dengan kulit jeruk segar yang tidak dikeringkan. Selain faktor perbedaan suhu pengeringan, faktor lain yang dapat berpengaruh antara lain kualitas jeruk yang digunakan, dan umur jeruk yang digunakan, faktor alam serta iklim tempat pertumbuhan jeruk, dan waktu panen.

Analisa total flavonoid dari bubuk kulit jeruk *baby java* dihasilkan sebesar 0,20  $\pm$  0,02 mg QE/mg, sedangkan total flavonoid dari hasil literatur yaitu sebesar 4,20  $\pm$  0,02 mg QE/g. Hasil yang didapat dari analisa lebih rendah jika dibandingkan dengan hasil dari literatur. Penyebab perbedaan hasil dari total flavonoid bubuk kulit jeruk *baby java* pada penelitian ini dan hasil literatur mungkin disebabkan karena suhu

pengeringan yang berbeda, dimana suhu pengeringan pada penelitian ini lebih tinggi dari suhu pengeringan yang digunakan pada penelitian hasil literatur. Hal ini dapat menyebabkan flavonoid yang merupakan bagian dari fenol ikut terdegradasi. Faktor lain yang dapat berpengaruh yaitu jenis jeruk manis yang digunakan pada penelitian ini dan data pembanding berbeda sehingga menghasilkan total flavonoid yang berbeda pula. Selain itu menurut Chen *et al.* (2011) pada penelitiannya tentang total flavonoid pada kulit jeruk *baby java*, perbedaan hasil total flavonoid dari bubuk kulit jeruk mungkin dipengaruhi oleh umur panen. Umur panen tanaman dapat mempengaruhi kandungan bahan aktif dari tanaman tersebut. Masa panen memiliki kaitan erat dengan fase pertumbuhan tanaman yang mencerminkan tingkat kematangan fisiologis tanaman dan hal tersebut sangat berkaitan dengan produksi dan kandungan yang ada dalam tanaman (Santoso, 2007). Faktor iklim dan topografi dari perkebunan tanaman jeruk juga dapat menjadi faktor penyebab perbedaan kandungan dari kulit jeruk. Pada penelitian ini jeruk yang didapat berasal dari kota Malang Indonesia, sedangkan jeruk yang digunakan pada hasil literatur berasal dari Nigeria, perbedaan tempat tumbuh antara di Indonesia dan Nigeria tersebut memungkinkan memberikan pengaruh terhadap ketersediaan sinar matahari dan lingkungan. Menurut Chusine dan Lamb (2005), ketersediaan matahari dapat mempengaruhi jumlah senyawa flavonoid pada tumbuhan, senyawa flavonoid banyak terdapat pada sel-sel yang sedang melakukan proses fotosintesis dan memerlukan cahaya matahari yang cukup.

Kadar tanin kulit jeruk *baby java* lebih rendah jika dibandingkan dengan hasil dari literatur. Pada hasil penelitian kadar tanin diperoleh sebesar 2,59 mg/g, sedangkan hasil dari literatur sebesar 7,43 mg/g. Tanin merupakan suatu senyawa yang tidak mudah larut pada pelarut non-polar namun mudah larut pada pelarut polar seperti air atau etanol (Haslan, 1996). Lebih rendahnya kadar tanin pada kulit jeruk *baby java* dibandingkan hasil literatur diduga karena adanya oksidasi tanin pada proses analisa bubuk kulit jeruk *baby java*. Tanin yang mengalami oksidasi menyebabkan tanin menjadi lebih kaku dan menjadi susah larut dalam etanol sehingga kadar tanin yang terekstrak akan rendah (Zanchi *et al*, 2007).

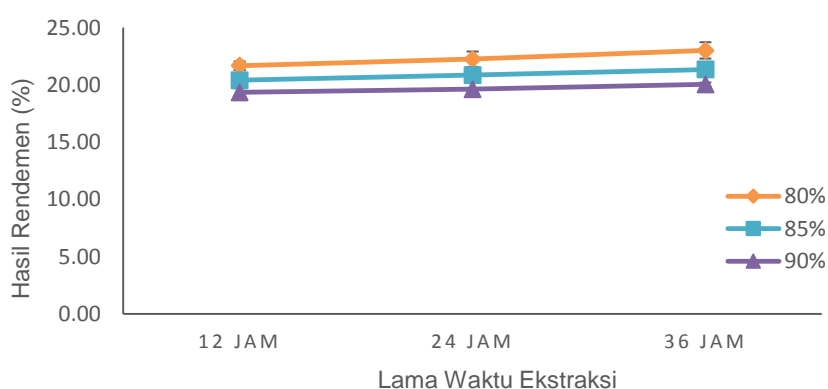
Kadar air pada kulit jeruk *baby java* lebih tinggi jika dibandingkan dengan bubuk kulit jeruk *baby java* dari hasil literatur. Pada kulit jeruk *baby java* hasil penelitian kadar air yang didapatkan yaitu sebesar 15,25% sedangkan pada bubuk kulit jeruk

hasil analisa kadar ait yang didapatkan sebesar 9,68%. Perbedaan hasil kadar air diduga karena berbagai faktor, diantaranya faktor iklim dan faktor lingkungan. Faktor iklim yang dapat berpengaruh seperti suhu, cuaca dan curah hujan, sedangkan faktor lingkungan yang dapat berpengaruh meliputi kesuburan tanah, jenis tanah, pemeliharaan dan perlakuan tanaman yang diberikan.

## 4.2 Karakteristik Kimia Ekstrak Kulit Jeruk *Baby Java*

### 4.2.1 Rendemen

Rendemen adalah perbandingan jumlah ekstrak yang dihasilkan dari suatu proses ekstraksi tanaman. Rendemen merupakan suatu parameter untuk mengetahui seberapa banyak produk yang dihasilkan dari suatu proses produksi. Perhitungan rendemen ekstrak kulit jeruk *baby java* dilakukan dengan cara mengitung hasil bagi antara berat akhir kulit jeruk *baby java* setelah diekstraksi dan berat awal kulit jeruk *baby java* yang belum diekstraksi, kemudian hasil akhir tersebut dikalikan dengan 100% (AOAC, 1984). Hasil rendemen dari ekstraksi kulit jeruk *baby java* berkisar antara 19% hingga 23%. Hasil rerata dari rendemen ekstraksi ini dapat dilihat pada gambar 4.1



**Gambar 4.1** Grafik Rerata Rendemen Ekstrak Kulit Jeruk *Baby java* Akibat Perbedaan Konsentrasi Etanol dan Lama Waktu Ekvstraksi

**Gambar 4.1** menunjukkan bahwa lama waktu ekstraksi yang berbeda cenderung meningkatkan rendemen ekstrak kulit jeruk *baby java*, sedangkan konsentrasi pelarut menurunkan rendemen ekstrak kulit jeruk *baby java*. Dari grafik

diatas dapat dilihat bahwa rendemen pada konsentrasi 80% terus meningkat seiring dengan bertambahnya lama waktu ekstraksi, sedangkan pada konsentrasi 85% dan 90% juga didapatkan hasil bahwa rendemen mengalami peningkatan seiring dengan lama waktu ekstraksi. Nilai rerata rendemen terendah didapatkan pada perlakuan konsentrasi pelarut 90% dengan lama waktu 12 jam, yaitu sebesar 19,35%. Sedangkan rendemen tertinggi didapatkan pada perlakuan konsentrasi 80% dengan lama waktu 36 jam, yaitu sebesar 23,01 %. Menurut Suryandari (1981), semakin lama waktu ekstraksi akan memberikan kesempatan bahan untuk kontak dengan pelarut lebih lama, sehingga hasil rendemen bertambah besar. Berdasarkan hal tersebut maka pelarut dengan lama waktu ekstraksi 36 jam akan menghasilkan rendemen yang lebih banyak jika dibandingkan dengan lama waktu ekstraksi 12 jam dan 24 jam. Sedangkan konsentrasi pelarut yang semakin tinggi dapat menurunkan jumlah rendemen karena kandungan fraksi etanol yang semakin tinggi pula sehingga dapat menurunkan rendemen suatu ekstrak.

Hasil sidik ragam (Lampiran 3) menunjukkan bahwa perbedaan perlakuan konsentrasi pelarut dan lama waktu ekstraksi memberikan pengaruh nyata ( $\alpha = 0,05$ ) terhadap rerata rendemen ekstrak kulit jeruk *baby java*, namun tidak terdapat interaksi diantara keduanya. Oleh karena itu uji lanjut dilakukan menggunakan uji Tukey. Rerata rendemen ekstrak kulit jeruk *baby java* dapat dilihat pada **Tabel 4.2**

**Tabel 4.2** Rerata Rendemen Ekstrak Kulit Jeruk *Baby java* Akibat Perlakuan Konsentrasi Etanol

Konsentrasi Pelarut	Rerata Rendemen (%)
80%	22,30 $\pm$ 0,66 c
85%	20,86 $\pm$ 0,46 b
90%	19,67 $\pm$ 0,34 a

Keterangan : 1) Setiap data merupakan rerata dari tiga ulangan

2) Nilai yang didampingi huruf yang berbeda menyatakan berbeda nyata pada  $\alpha = 0,05$

**Tabel 4.2** menunjukkan bahwa rerata rendemen ekstrak kulit jeruk *baby java* semakin menurun dengan meningkatnya konsentrasi etanol. Hal ini diduga karena semakin tinggi konsentrasi etanol maka kandungan air dalam pelarut tersebut semakin sedikit sehingga ketika pelarut diuapkan menggunakan *rotary evaporator*,

etanol yang teruapkan akan semakin banyak dan ekstrak menjadi semakin kental dan sedikit. Hal ini diperkuat oleh penelitian yang dilakukan oleh Agustin dan Ismiati (2015) tentang pengaruh konsentrasi etanol terhadap antosianin bunga kembang sepatu, dimana pada penelitian tersebut rendemen yang dihasilkan juga semakin menurun seiring dengan meningkatnya konsentrasi pelarut. Semakin tinggi konsentrasi pelarut maka proses evaporasi juga akan semakin cepat dan mudah. Hal ini dikarenakan titik didih etanol yang lebih rendah dibandingkan dengan air.

Hasil rerata rendemen tertinggi didapatkan pada konsentrasi etanol 80% yaitu sebesar 22,30%. Hasil ini lebih tinggi dan berbeda nyata jika dibandingkan dengan konsentrasi pelarut 85% yaitu sebesar 20,86% dan konsentrasi pelarut 90% sebesar 19,67%. Rendemen dari konsentrasi pelarut 80% lebih cair jika dibandingkan dengan pelarut etanol 85% dan 90%. Hal ini diduga karena masih terdapat kandungan air pada ekstrak tersebut. Seperti yang telah disebutkan sebelumnya bahwa titik didih air lebih tinggi dibandingkan titik didih etanol yang mengakibatkan air tidak bisa teruapkan ketika proses evaporasi dikarenakan suhu yang digunakan pada saat proses evaporasi hanya 40°C. Suhu saat proses evaporasi tersebut tidak cukup untuk menguapkan kandungan air yang ada pada pelarut etanol, sehingga semakin rendah konsentrasi etanol maka kandungan air pada ekstrak akan semakin banyak dan menyebabkan volume menjadi lebih tinggi.

Rerata rendemen ekstrak kulit jeruk *baby java* terhadap perlakuan lama waktu ekstraksi dapat dilihat pada **Tabel 4.3**

**Tabel 4.3** Rerata Rendemen Ekstrak Kulit Jeruk *Baby java* Akibat Perlakuan Lama Waktu Ekstraksi

Lama Waktu Ekstraksi	Rerata Rendemen (%)
12 jam	20,47 ± 1,16 a
24 jam	20,90 ± 1,31 ab
36 jam	21,46 ± 1,48 b

Keterangan : 1) Setiap data merupakan rerata dari tiga ulangan

2) Nilai yang didampingi huruf yang berbeda menyatakan berbeda nyata pada  $\alpha=0,05$

**Tabel 4.3** menunjukkan bahwa semakin lama waktu ekstraksi maka rerata rendemen ekstrak kulit jeruk *baby java* juga semakin tinggi. Hal ini diduga karena



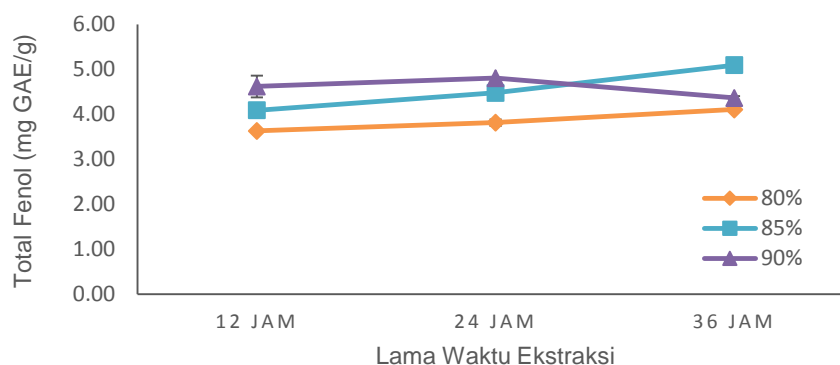
semakin tinggi waktu ekstraksi maka pelarut memiliki waktu yang cukup banyak untuk menembus dinding sel dan menarik keluar senyawa-senyawa yang terkandung dalam bahan. Menurut Tambun *et al.* (2016) semakin lama waktu ekstraksi yang digunakan, maka pelarut semakin mudah untuk menarik zat-zat kimia yang ada. Kontak antara pelarut dengan bahan akan semakin lama sehingga dari keduanya akan terjadi pengendapan massa secara difusi sampai terjadi keseimbangan konsentrasi larutan di dalam dan di luar bahan ekstraksi. Pengaruh waktu dalam perolehan hasil ekstraksi disebabkan karena lamanya kontak antara bahan dan pelarut semakin besar sampai batas tidak ada yang terekstraksi. Sehingga semakin lama waktu ekstraksi maka semakin banyak rendemen yang dihasilkan (Ningsih *et al.*, 2015). Rendemen ekstrak pada metode maserasi memiliki rendemen yang lebih kecil jika dibandingkan dengan metode refluks dan soxhletasi, hal ini dikarenakan metode maserasi hanya menggunakan panas sedang ataupun tidak menggunakan panas sama sekali. Oleh karena itu, untuk memperoleh zat aktif yang lebih banyak dibutuhkan waktu dan proses yang lama (Wijaya *et al.*, 2018).

Hasil rerata rendemen tertinggi terdapat pada lama ekstraksi dengan waktu 36 jam sebesar 21,46%. Hasil tersebut lebih tinggi dan berbeda nyata jika dibandingkan dengan rendemen yang dihasilkan dari perlakuan lama ekstraksi 24 jam yaitu sebesar 20,90% dan lama ekstraksi 12 jam sebesar 20,47%. Menurut Ningsih *et al.* (2015), pada penelitiannya tentang proses ekstraksi remaserasi kulit buah durian menyatakan bahwa semakin tinggi lama waktu yang digunakan (2 hari, 5 hari, 7, hari, 9 hari, dan 11 hari), jumlah rendemen yang didapatkan semakin bertambah hingga hari ke-9 dan menurun pada hari ke-11 karena adanya pemanasan yang terlalu lama. Hal ini dapat menguatkan dugaan bahwa semakin lama waktu ekstraksi pada kulit jeruk *baby java*, maka rendemen yang dihasilkan juga akan semakin meningkat. Selain itu diduga bahwa ketika lama waktu ekstraksi 36 jam, ekstraksi belum mengalami kesetimbangan sehingga rendemen terus meningkat dan nantinya jumlah rendemen akan menurun ketika titik optimal ekstraksi telah tercapai.

#### 4.2.2 Total Fenol

Hasil analisa rerata total fenol ekstrak kulit jeruk *baby java* yang didapat berkisar antara 3,63 mg GAE/g hingga 5,09 mg GAE/g. Rerata total fenol dari ekstrak

kulit jeruk *baby java* akibat pengaruh perbedaan konsentrasi etanol dan lama waktu ekstraksi dapat dilihat pada **Gambar 4.2**.



**Gambar 4.2** Grafik Rerata Total Fenol Ekstrak Kulit Jeruk *Baby java* Akibat Perbedaan Konsentrasi Etanol dan Lama Waktu Ekstraksi

**Gambar 4.2** menunjukkan bahwa perlakuan pemberian konsentrasi etanol dan lama waktu ekstraksi yang berbeda cenderung meningkatkan total fenol pada ekstrak kulit jeruk *baby java*. Dari grafik diatas dapat dilihat bahwa jumlah total fenol pada konsentrasi 80% terus meningkat seiring dengan bertambahnya lama waktu ekstraksi, pada konsentrasi 85% juga didapatkan hasil bahwa total fenol mengalami peningkatan seiring dengan lama waktu ekstraksi. Namun pada konsentrasi 90% total fenol mengalami penurunan pada lama waktu 12 jam dan mengalami peningkatan kembali pada waktu 24 jam dan kembali menurun saat diekstraksi pada waktu 36 jam. Nilai rerata total fenol terendah didapatkan pada perlakuan konsentrasi pelarut 80% dengan lama waktu 12 jam, yaitu sebesar 3,63 mg GAE/g. Sedangkan nilai total fenol tertinggi didapatkan pada perlakuan konsentrasi 85% dan lama waktu 36 jam, yaitu sebesar 5,09 mg GAE/g. Jika dilihat dari grafik diatas, dengan waktu ekstraksi yang berbeda total fenol pada perlakuan konsentrasi etanol 90% pada waktu ekstraksi 36 jam cenderung mengalami penurunan jika dibandingkan dengan hasil total fenol dari ekstrak dengan konsentrasi 85% dan 80%. Diduga pada konsentrasi 90% dengan lama waktu 36 jam mungkin sudah memasuki fase jenuh sehingga dalam keadaan tersebut proses ekstraksi tidak berjalan secara maksimal dan mempengaruhi total fenol yang terekstrak dari kulit jeruk *baby java*. Tingginya konsentrasi etanol dan waktu ekstraksi yang terlalu lama mungkin menjadi faktor penyebab terjadinya proses ekstraksi yang tidak sempurna pada perlakuan tersebut.

Hasil analisa ragam menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi pelarut dan lama waktu ekstraksi memberikan pengaruh nyata ( $\alpha = 0,05$ ) terhadap total fenol ekstrak kulit jeruk *baby java* dan terjadi interaksi diantara kedua faktor tersebut (Lampiran 4), maka dari itu perlu dilakukan uji selanjutnya menggunakan uji Tukey yang dapat dilihat pada **Tabel 4.4**

**Tabel 4.4** Rerata Total Fenol Akibat Perlakuan Konsentrasi Etanol dan Lama Waktu Ekstraksi

Konsentrasi Pelarut	Lama Waktu Ekstraksi	Rerata Total Fenol (mg GAE/g)
80%	12 jam	$3,63 \pm 0,02$ a
	24 jam	$3,81 \pm 0,07$ ab
	36 jam	$4,11 \pm 0,38$ c
85%	12 jam	$4,09 \pm 0,11$ bc
	24 jam	$4,48 \pm 0,04$ d
	36 jam	$5,09 \pm 0,01$ f
90%	12 jam	$4,62 \pm 0,24$ de
	24 jam	$4,80 \pm 0,00$ e
	36 jam	$4,36 \pm 0,03$ cd

Keterangan : 1) Setiap data merupakan rerata dari tiga ulangan

2) Nilai yang didampingi huruf yang berbeda menyatakan berbeda nyata pada  $\alpha = 0,05$

**Tabel 4.4** menunjukkan bahwa konsentrasi etanol dan lama waktu ekstraksi cenderung meningkatkan rerata total fenol pada konsentrasi 80% dan konsentrasi 85% dengan waktu ekstraksi 12 jam, 24 jam, 36 jam dan 36 jam, serta pelarut dengan konsentrasi 90% dengan lama waktu ekstraksi 12 jam dan 24 jam. Namun pada perlakuan konsentrasi 90% dengan lama waktu 36 jam rerata fenol mengalami penurunan. Selain itu, keseluruhan rerata total fenol dari perlakuan konsentrasi 90% juga mengalami penurunan jika dibandingkan dengan keseluruhan rerata fenol konsentrasi 85%. Rerata total fenol terendah didapat pada perlakuan konsentrasi 80% dengan lama waktu ekstraksi 12 jam yaitu sebesar  $3,63$  mg GAE/mg, sedangkan rerata total fenol tertinggi didapatkan pada perlakuan konsentrasi 85% dengan lama waktu 36 jam yaitu sebesar  $5,09$  mg GAE/g.

Tingginya rerata total fenol pada konsentrasi 85% dan terjadinya penurunan rerata total fenol pada konsentrasi 90% mungkin disebabkan karena kandungan metabolit sekunder pada konsentrasi pelarut 85% lebih banyak terekstrak

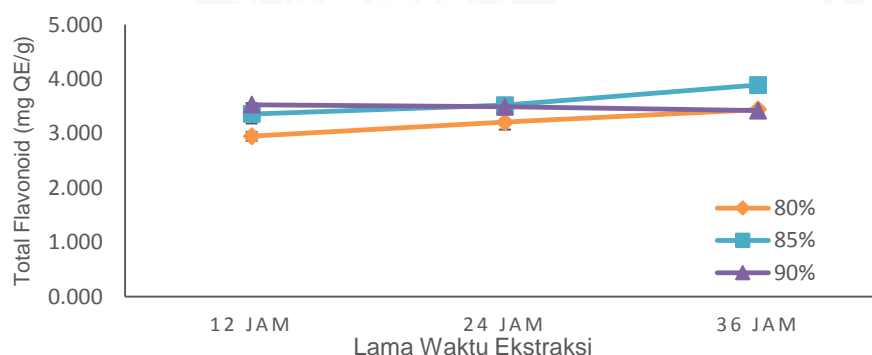
dibandingkan dengan pelarut berkonsentrasi 90%. Hal tersebut dapat terjadi karena adanya perbedaan polaritas antara pelarut. Berdasarkan prinsip “*like dissolve like*”, suatu pelarut akan mampu melarutkan suatu senyawa yang memiliki sifat kepolaran yang hampir sama dengan pelarut tersebut (Spigno *et al.*, 2007; Zhang, 2007; Yang and Zhang, 2008). Menurut Shadmani (2004), semakin tinggi konsentrasi etanol yang digunakan maka tingkat kepolaran dari pelarut tersebut akan semakin rendah. Hal ini dapat membuat kemampuan etanol dalam mengekstrak senyawa polar menurun. Pada penelitian ini rerata fenol tertinggi didapatkan pada konsentrasi 85% dengan lama waktu 36 jam, hal ini diduga dikarenakan sebagian besar senyawa fenol pada kulit jeruk *baby java* memiliki kepolaran yang hampir sama dengan pelarut etanol berkonsentrasi 85%. Hal tersebut cenderung menyebabkan rerata fenol dari ekstrak konsentrasi 80% dan 90% lebih rendah dikarenakan kedua pelarut ini memiliki tingkat kepolaran yang berbeda dari pelarut 85%. Chew *et al.* (2011), menyebutkan bahwa kesamaan kepolaran suatu pelarut dengan fenol dapat mempengaruhi nilai total fenol tersebut. Tingginya total fenol dari konsentrasi 85% ini juga berkaitan dengan lama waktu ekstraksi yang digunakan, menurut Ayuningtyas (2010), waktu ekstraksi akan memberikan waktu yang optimal pada bahan dan pelarut untuk melakukan kontak dan semakin banyak senyawa bioaktif yang terekstrak. Hal inilah yang diduga menyebabkan perlakuan konsentrasi 85 % dengan lama waktu 36 jam menghasilkan rerata fenol paling tinggi dibandingkan yang lainnya, karena semakin lama waktu ekstraksi dilakukan maka kesempatan total metabolit sekunder yang terekstrak pada etanol 85% akan semakin besar pula sehingga rerata total fenol yang didapatkan juga akan semakin tinggi.

Adanya penurunan total fenol pada konsentrasi 90% dengan lama waktu 36 jam tentu tidak sesuai dengan penjelasan yang telah dijelaskan sebelumnya bahwa semakin lama waktu ekstraksi maka metabolit sekunder yang terekstrak pun juga akan semakin tinggi. Hal ini ini diduga karena pada perlakuan tersebut terdapat proses degradasi fenol. Fenol merupakan senyawa yang sangat rentan terdegradasi oleh suhu, oksigen dan cahaya. Menurut Melo *et al.* (2005), kecepatan degradasi fenol meningkat seiring dengan bertambahnya jumlah oksigen. Meskipun proses ekstraksi pada penelitian ini dilakukan di tempat yang tertutup dan terhindar dari cahaya, namun kemungkinan terpapar oksigen bisa saja terjadi. Hal ini dikarenakan penutupan mulut wadah tempat ekstraksi yang digunakan hanya terbuat dari aluminium foil sehingga

penutupan kurang rapat dan masih memungkinkan oksigen dari udara masuk yang dapat larut dalam etanol. Kelarutan oksigen pada pelarut etanol yaitu sebesar 60.000 ppm, sedangkan kelarutan oksigen pada air yaitu sebesar 10.000 ppm (Garchia-Ochoa *et al.*, 2004; Washburn, 2003). Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi etanol maka kelarutan oksigen pada etanol tersebut akan semakin meningkat jika dibandingkan dengan etanol yang memiliki campuran air lebih banyak. Waktu ekstraksi yang semakin lama membuat kesempatan terjadinya degradasi fenol juga semakin tinggi sehingga menyebabkan total fenol yang dihasilkan akan semakin rendah. Selain itu kemungkinan lain adalah pelarut sudah memasuki fase jenuh dan fenol sudah mengalami degradasi karena adanya panas pada proses maserasi. Selain itu menurut Mediani *et al.* (2014) perlakuan panas mungkin dapat menyebabkan terjadinya degradasi senyawa fenol dari tanaman tersebut.

#### 4.2.3 Total Flavonoid

Hasil analisa rerata total flavonoid ekstrak kulit jeruk *baby java* yang didapat berkisar antara 2,94 mg QE/g hingga 3,89 mg QE/g. Rerata total fenol dari ekstrak kulit jeruk *baby java* akibat pengaruh perbedaan konsentrasi etanol dan lama waktu ekstraksi dapat dilihat pada **Gambar 4.3**



**Gambar 4.3** Grafik Rerata Total Flavonoid Ekstrak Kulit Jeruk *Baby java* Akibat Perbedaan Konsentrasi Etanol dan Lama Waktu Ekstraksi

**Gambar 4.3** menunjukkan bahwa perlakuan pemberian konsentrasi pelarut dan lama waktu ekstraksi yang berbeda cenderung meningkatkan total flavonoid pada ekstrak kulit jeruk *baby java*. Hal ini diduga karena flavonoid merupakan senyawa yang bersifat polar sehingga flavonoid akan lebih banyak terekstrak dengan pelarut



yang memiliki sifat polar seperti etanol. Dari grafik diatas dapat dilihat bahwa jumlah total flavonoid pada konsentrasi 80% terus meningkat seiring dengan bertambahnya lama waktu ekstraksi, pada konsentrasi 85% juga didapatkan hasil bahwa total fenol mengalami peningkatan seiring dengan lama waktu ekstraksi. Namun pada konsentrasi 90% total flavonoid terus mengalami penurunan pada lama waktu 12 jam hingga pada waktu 36 jam. Hal ini diduga dikarenakan berkaitan dengan konsentrasi pelarut yang digunakan, pelarut yang memiliki konsentrasi semakin tinggi diduga kurang efektif untuk mengekstrak flavonoid jeruk *baby java*. Selain itu waktu ekstraksi yang semakin lama dapat membuat proses ekstraksi semakin berkurang kecepatannya sehingga meskipun waktu ekstraksi dilakukan lebih lama tidak akan membuat total flavonoid yang terekstrak semakin meningkat (Tan *et al.*, 2013). Nilai rerata total flavonoid terendah didapatkan pada perlakuan konsentrasi pelarut 80% dengan lama waktu 12 jam, yaitu sebesar 2,94 mg QE/g. Sedangkan nilai total flavonoid tertinggi didapatkan pada perlakuan konsentrasi 85% dan lama waktu 36 jam, yaitu sebesar 3,89 mg QE/g.

Hasil analisa ragam menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi pelarut dan lama waktu ekstraksi memberikan pengaruh nyata pada selang kepercayaan 5% terhadap total fenol ekstrak kulit jeruk *baby java* dan terjadi interaksi diantara kedua faktor tersebut (Lampiran 5), maka dari itu perlu dilakukan uji selanjutnya menggunakan uji Tukey yang dapat dilihat pada **Tabel 4.5**

**Tabel 4.5** Rerata Total Flavonoid Akibat Perlakuan Konsentrasi Etanol dan Lama Waktu Ekstraksi

Konsentrasi Pelarut	Lama Waktu Ekstraksi	Rerata Total Flavonoid (mg QE/ g)
80%	12 jam	2,948 ± 0,08 a
	24 jam	3,208 ± 0,14 b
	36 jam	3,439 ± 0,04 bc
85%	12 jam	3,358 ± 0,17 bc
	24 jam	3,519 ± 0,10 c
	36 jam	3,890 ± 0,05 d
90%	12 jam	3,528 ± 0,03 c
	24 jam	3,660 ± 0,05 c
	36 jam	3,418 ± 0,06 bc

Keterangan : 1) Setiap data merupakan rerata dari tiga ulangan

2) Nilai yang didampingi huruf yang berbeda menyatakan berbeda nyata pada  $\alpha=0,05$



**Tabel 4.5** menunjukkan bahwa rerata total flavonoid pada konsentrasi etanol 80% dan 85% meningkat seiring dengan bertambahnya lama waktu ekstraksi. Namun pada konsentrasi 90% rerata flavonoid mengalami penurunan seiring dengan bertambahnya lama waktu. Hal ini diduga karena adanya perbedaan polaritas dari pelarut yang digunakan. Flavonoid memiliki ikatan dengan gugus gula yang menyebabkan flavonoid bersifat polar. Saat flavonoid berikatan dengan gugus gula dan membentuk glikosida, sifat kepolaran flavonoid tersebut akan semakin tinggi hal ini dikarenakan adanya gula yang terikat pada flavonoid menyebabkan mudah larut dalam air. Menurut Ding (1998), kepolaran dari pelarut etanol akan meningkat seiring dengan meningkatnya jumlah air yang ditambahkan pada pelarut tersebut. Hal tersebut menyebabkan konsentrasi pelarut yang memiliki konsentrasi tinggi akan menjadi semakin non-polar dan kurang efektif digunakan untuk mengekstrak flavonoid yang memiliki sifat polar.

Hasil rerata tertinggi pada ekstrak kulit jeruk *baby java* didapatkan perlakuan konsentrasi 85% dengan lama waktu 36 jam sebanyak 3,89 mg QE/g. Tingginya total flavonoid pada perlakuan ini disebabkan karena kecocokan polaritas antara pelarut yang digunakan dengan flavonoid yang terkandung dalam kulit jeruk *baby java*. Menurut Schieber, Stintzing, & Carle (2001), beberapa jenis flavonoid yang ada pada kulit jeruk manis adalah hesperidin, naringin, narirutin, diosmin, eriocitrin, neohesperidin, diosmin, nobiletin, tangeretin. Dari beberapa jenis flavonoid yang terkandung dalam kulit jeruk manis tersebut terdapat flavonoid yang merupakan aglikon flavonoid dan glikosida flavonoid (Londono *et al.*, 2009). Flavonoid terdiri dari aglikon, glikosida, dan *methyalted derivatives* (Kumar and Pandey, 2013). Selain itu, Landono juga menyebutkan bahwa jenis flavonoid yang paling banyak terkandung pada kulit jeruk adalah hesperidin yang merupakan glikosida flavonoid. Seperti yang telah dijelaskan sebelumnya bahwa semakin tinggi glikosida yang terbentuk maka flavonoid tersebut akan semakin polar. Hal inilah yang diduga membuat pelarut dengan konsentrasi etanol 85% lebih efektif dibandingkan dengan konsentrasi etanol 90% yang memiliki sifat kurang polar. Pelarut dengan konsentrasi etanol 85% akan lebih baik dalam mengekstrak senyawa glikosida flavonoid yang sebagian besar ada pada kulit jeruk. Selain itu, kulit jeruk juga mengandung aglikon flavonoid, salah satunya yaitu senyawa hesperitin. Aglikon flavonoid adalah struktur sederhana dari

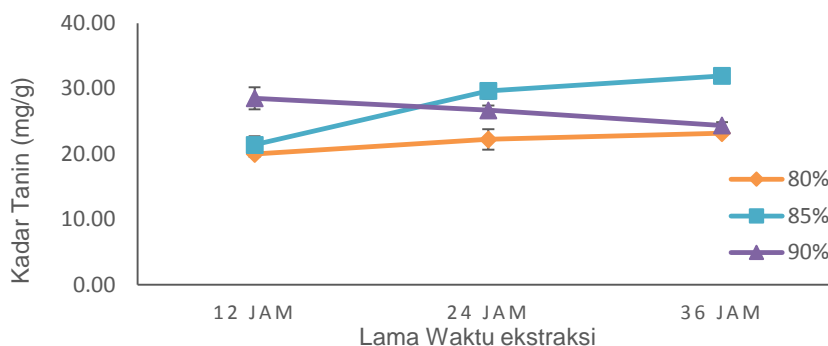
flavonoid, flavonoid jenis ini memiliki sifat kelarutan yang rendah dalam air (Kumar and Pandey, 2013). Hal ini menyebabkan aglikon flavonoid memiliki sifat kurang polar dibandingkan glikosida flavonoid. Senyawa aglikon flavonoid tersebut akan dapat terekstrak lebih baik jika diekstrak menggunakan pelarut yang juga memiliki sifat non-polar. Oleh karena itu, etanol konsentrasi 85% lebih efektif digunakan jika dibandingkan dengan pelarut etanol 80% karena sifat pelarut etanol 85% yang lebih non-polar. Kedua hal tersebut diduga membuat kandungan glikosida flavonoid dan aglikon flavonoid pada ekstra kulit jeruk *baby java* pada perlakuan konsentrasi 85% lebih tinggi dibandingkan kedua pelarut lainnya.

Hasil rerata terendah total flavonoid didapatkan pada perlakuan konsentrasi 80% dengan lama waktu 12 jam sebesar 2,94 mg QE/g. Hal ini dipengaruhi oleh konsentrasi pelarut seperti yang telah dijelaskan pada paragraf sebelumnya, dan lama waktu dari proses ekstraksi. Umumnya lama waktu ekstraksi yang semakin lama akan membuat kontak antara pelarut dengan bahan akan semakin besar sehingga proses menembus dinding sel untuk menarik senyawa-senyawa yang terkandung dalam bahan tersebut akan semakin tinggi pula. Semakin lama waktu ekstraksi maka proses pelarut melakukan penetrasi ke dalam bahan akan semakin tinggi sehingga senyawa flavonoid yang dihasilkan akan semakin meningkat (Ashad, 2016). Namun proses ekstraksi yang terlalu lama juga dapat membuat pelarut menjadi jenuh dan tidak mampu melakukan proses ekstraksi secara optimal. Rerata total flavonoid yang menurun pada konsentrasi 90% dengan lama waktu 36 jam diduga karena pada perlakuan tersebut pelarut sudah mengalami fase jenuh sehingga rerata total flavonoid menurun, hal ini dapat disebabkan karena adanya degradasi flavonoid yang disebabkan oleh oksigen. Menurut Ramesova *et al.* (2102), flavonoid adalah senyawa yang tidak stabil terhadap oksigen, sehingga oksigen bebas yang ada di udara dapat dengan mudah membuat flavonoid terdegradasi. Adanya degradasi flavonoid ini menyebabkan jumlah flavonoid yang terekstrak menjadi lebih rendah.

#### 4.2.4 Kadar Tanin

Tanin merupakan suatu senyawa yang tersebar luas dalam tanaman, senyawa ini termasuk dalam polifenol yang bersifat antioksidan. Senyawa ini dapat bereaksi dengan senyawa organik seperti asam amino dan alkaloid. Pada penelitian ini

pengujian kadar tanin menggunakan asam tanat sebagai kurva standar. Berdasarkan penentuan kurva standar asam tanat didapatkan persamaan regresi linear  $y = 0.012x - 0.0148$ . Hasil analisa rerata kadar tanin dari ekstrak kulit jeruk *baby java* yang didapat berkisar antara 20,00 mg/g hingga 31,95 mg/g. Rerata kadar tanin ekstrak kulit jeruk *baby java* akibat pengaruh perbedaan konsentrasi pelarut dan lama waktu ekstraksi dapat dilihat pada **Gambar 4.4**



**Gambar 4.4** Grafik Rerata Kadar Tanin Ekstrak Kulit Jeruk *Baby java* Akibat Perbedaan Konsentrasi Etanol dan Lama Waktu Ekstraksi

**Gambar 4.4** menunjukkan bahwa perlakuan pemberian konsentrasi etanol dan lama waktu ekstraksi yang berbeda cenderung meningkatkan kadar tanin ekstrak kulit jeruk *baby java*. Dari grafik diatas dapat dilihat bahwa kadar tanin pada konsentrasi 80% terus meningkat seiring dengan bertambahnya lama waktu ekstraksi, sedangkan pada konsentrasi 85% juga didapatkan hasil bahwa kadar tanin mengalami peningkatan seiring dengan lama waktu ekstraksi. Namun pada saat dilakukan ekstraksi dengan konsentrasi 90% kadar tanin terus mengalami penurunan seiring dengan semakin lama waktu ekstraksi. Nilai rerata kadar tanin terendah didapatkan pada perlakuan konsentrasi pelarut 80% dengan lama waktu 12 jam, yaitu sebesar 20,00 mg/g. Sedangkan kadar tanin tertinggi didapatkan pada perlakuan konsentrasi 85% dan lama waktu 36 jam, yaitu sebesar 31,95 mg GAE/g. Konsentrasi pelarut yang semakin tinggi dapat meningkatkan kadar total tanin pada ekstrak kulit jeruk *baby java*. Hal ini disebabkan karena perbedaan konsentrasi etanol sebagai pelarut dapat mempengaruhi jumlah tanin yang terlarut dalam proses ekstraksi, selain itu tingkat kepolaran pelarut yang berbeda akan menyebabkan kemampuan pelarut dalam mengeskrak tanin akan berbeda pula. Selain itu, pada konsentrasi 90% dengan lama waktu 24 jam dan 36 jam diduga sudah memasuki fase jenuh sehingga

sudah tidak memungkinkan terjadinya ekstraksi pada kulit jeruk *baby java*. Pada awal proses ekstraksi seluruh senyawa yang ada pada bahan akan terekstrak keluar dan bercampur dengan pelarut. Namun setelah proses tersebut sudah mencapai titik optimal, senyawa yang ada pada bahan akan mengalami penurunan (Ashad, 2016).

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa perbedaan perlakuan konsentrasi pelarut dan lama waktu ekstraksi memberikan pengaruh nyata ( $\alpha = 0,05$ ) terhadap rerata kadar tanin ekstrak kulit jeruk *baby java*, dan terdapat interaksi antara keduanya (Lampiran 6). Oleh karena itu uji lanjut dilakukan menggunakan uji lanjut Tukey yang dapat dilihat pada **Tabel 4.6**

**Tabel 4.6** Rerata Kadar Tanin Akibat Perlakuan Konsentrasi Etanol dan Lama Waktu Ekstraksi

Konsentrasi Pelarut	Lama Waktu Ekstraksi	Rerata Total Tanin (mg/g)
80%	12 jam	20,00 $\pm$ 0,40 a
	24 jam	22,23 $\pm$ 1,55 ab
	36 jam	23,20 $\pm$ 0,24 abc
85%	12 jam	21,41 $\pm$ 1,29 ab
	24 jam	29,65 $\pm$ 1,18 ef
	36 jam	31,95 $\pm$ 0,14 f
90%	12 jam	28,53 $\pm$ 1,68 de
	24 jam	26,68 $\pm$ 0,72 cde
	36 jam	24,37 $\pm$ 0,51 bcd

Keterangan : 1) Setiap data merupakan rerata dari tiga ulangan

2) Nilai yang didampingi huruf yang berbeda menyatakan berbeda nyata pada  $\alpha = 0,05$

**Tabel 4.6** menyatakan bahwa rerata kadar tanin ekstrak kulit jeruk *baby java* cenderung mengalami peningkatan pada konsentrasi etanol 80% dan 85% seiring dengan semakin lama waktu ekstraksi. Namun pada konsentrasi 90% rerata tanin terus mengalami penurunan. Hal ini diduga berkaitan dengan sifat tanin dan keporan dari pelarut. Pada proses ekstraksi pelarut memiliki peranan yang penting, suatu pelarut harus memiliki sifat kepolaran yang sama dengan senyawa pada bahan yang ingin diekstrak agar senyawa tersebut terekstrak secara optimal. Pelarut memiliki peranan penting dalam suatu ekstraksi, pelarut polar akan mampu mengekstrak senyawa yang bersifat polar. Pada proses ekstraksi tanin ini, pelarut etanol merupakan salah satu pelarut yang cocok digunakan karena sifatnya yang polar. Campuran alkohol dan air sebagai pelarut dari senyawa fenolik memiliki kemampuan yang lebih baik jika dibandingkan dengan *mono-solvents*, seperti air (Dent, 2012; Spigno *et al.*, 2007; Tomsone *et al.*, 2012).

Hasil rerata terendah didapatkan pada konsentrasi 80% dengan lama waktu 12 jam yaitu sebesar 20 mg/g. Hal ini dikarenakan penggunaan konsentrasi pelarut yang rendah dan lama waktu ekstraksi yang singkat. Robinson (1995), menyatakan struktur senyawa tanin tersusun atas atom-atom yang berbeda dan tanin memiliki gugus hidroksi lebih dari satu dan memiliki momen dipol tidak sama dengan nol ( $\mu \neq 0$ ), hal ini menyebabkan tanin memiliki sifat polar, sehingga harus dilarutkan dengan pelarut yang bersifat polar. Tanin memiliki sifat lebih larut terhadap etanol jika dibandingkan dengan air. Hal ini dikarenakan etanol lebih polar jika dibandingkan dengan air. Semakin polar pelarut yang digunakan maka tanin yang terekstrak juga akan semakin tinggi. Hal ini diperkuat oleh Marnoto (2012), yang menyatakan bahwa kemurnian etanol yang semakin rendah ternyata juga menyebabkan ekstrak tanin yang diperoleh semakin rendah. Hal tersebut terjadi karena kandungan air yang semakin banyak seiring dengan semakin rendahnya kemurnian etanol. Selain konsentrasi etanol, menurut Shinta dkk (2008), faktor waktu ekstraksi merupakan hal yang cukup penting diperhatikan dalam proses ekstraksi tanin karena juga dapat mempengaruhi kualitas hasil ekstraksi. Proses ekstraksi yang terlalu singkat akan menghasilkan kandungan tanin yang kurang optimal.

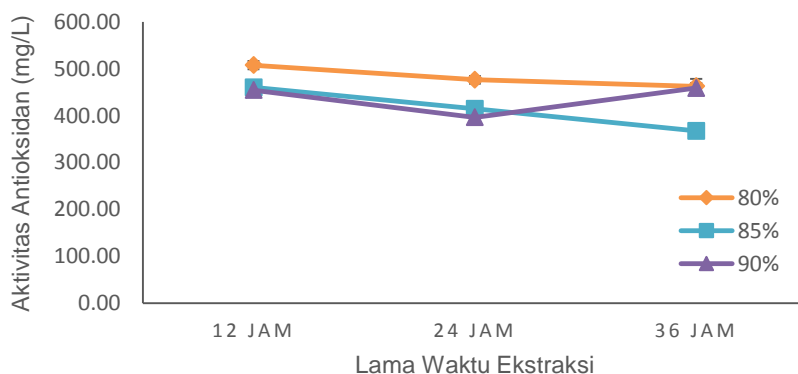
Konsentrasi tanin tertinggi didapatkan pada etanol 85% dengan lama waktu 36 jam, yaitu sebesar 31,95 mg/g. Tingginya tanin pada konsentrasi ini diduga disebabkan karena tanin terkondensasi yang terekstrak lebih banyak dibandingkan dengan kedua pelarut lainnya dan waktu ekstraksi yang semakin lama membuat tanin terkestrak lebih optimal. Menurut Hernandez *et al.* (2003), tanin terkondensasi yang ditemukan pada tanaman jumlahnya lebih banyak dibandingkan dengan jumlah tanin terhidrolisis. Tanin terkondensasi ini sering ditemukan dalam bentuk polimer. Menurut Downey and Hanlin (2010), konsentrasi panjang polimer tanin terkondensasi (mg/g fwt skin) berbanding lurus terhadap tanin yang terkestrak. Pada penelitiannya, semakin tinggi konsentrasi panjang polimer tanin terkondensasi yang terkestrak pada pelarut etanol maka tanin yang terekstrak juga semakin tinggi, sebaliknya jika konsentrasi panjang polimer tanin terkondensasi semakin rendah maka tanin yang terkestrak juga semakin rendah. Selain itu, secara umum semakin lama waktu ekstraksi maka nilai dari tanin akan semakin tinggi. Ini mungkin disebabkan karena semakin panjang waktu kontak antara *solute* dan *solvent*, kontak yang semakin lama membuat terjadinya transfer massa semakin tinggi (Baldosano *et al.*, 2015).



Penurunan rerata kadar tanin pada konsentrasi pelarut 90% seiring dengan semakin lamanya waktu diduga dikarenakan reaksi hidrolisis tanin dan transfer massa yaitu difusi komponen terlarut dari padatan ke dalam pelarut. Proses ekstraksi yang terlalu lama juga mendukung terjadinya reaksi hidrolisis semakin tinggi sehingga mengakibatkan rusaknya kandungan tanin. Dalam ekstraksi, waktu yang berlebihan terkadang tidak diperlukan karena pelarut dan sampel akan berada dalam kesetimbangan akhir setelah durasi tertentu. Ini berdasarkan pada hukum difusi kedua Fick, dimana hukum tersebut menyebutkan bahwa pada saat keseimbangan telah tercapai, maka tingkat ekstraksi senyawa akan berkurang kecepatannya (Tan *et al.*, 2013).

#### 4.2.5 Aktivitas Antioksidan IC50

Rerata aktivitas antioksidan ekstrak kulit jeruk *baby java* akibat pengaruh perbedaan konsentrasi pelarut dan lama waktu ekstraksi dapat dilihat pada **Gambar 4.5**



**Gambar 4.5** Grafik Rerata Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Jeruk *Baby java* Akibat Perbedaan Konsentrasi Pelarut dan Lama Waktu Ekstraksi

**Gambar 4.5** menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi etanol dan lama waktu ekstraksi yang berbeda menyebabkan aktivitas antioksidan yang naik turun. Dari grafik diatas dapat dilihat bahwa aktivitas antioksidan pada konsentrasi 80% dan konsentrasi 85% didapatkan hasil yaitu aktivitas antioksidan mengalami penurunan seiring dengan lama waktu ekstraksi. Namun pada saat dilakukan ekstraksi dengan konsentrasi etanol 90% aktivitas antioksidan mengalami hasil yang naik turun. Pada



ekstrak konsentrasi 90% dengan waktu 12 jam dan 24 jam terjadi penurunan aktivitas antioksidan namun pada waktu ekstraksi 36 jam aktivitas antioksidan kembali meningkat. Nilai rerata aktivitas terendah didapatkan pada perlakuan konsentrasi pelarut 85% dengan lama waktu 36 jam, yaitu sebesar 367,10 mg/L. Sedangkan aktivitas antioksidan tertinggi didapatkan pada perlakuan konsentrasi 80% dan lama waktu 12 jam, yaitu sebesar 507,64 mg/L. Penurunan hasil aktivitas antioksidan IC50 diduga karena semakin tinggi konsentrasi pelarut dan lama waktu ekstraksi maka persen inhibisi pada ekstrak kulit jeruk *baby java* akan semakin tinggi. Semakin tinggi nilai persen inhibisi maka semakin tinggi kemampuan antioksidan dalam ekstrak kulit jeruk *baby java*. Hal tersebut berbanding terbalik dengan nilai IC50 dimana semakin kecil nilai IC50 yang didapat maka kemampuan antioksidan dalam menangkal radikal bebas akan semakin tinggi (Naik, 2003).

Hasil analisa ragam menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi pelarut dan lama waktu ekstraksi memberikan pengaruh nyata pada selang kepercayaan 5% terhadap aktivitas antioksidan ekstrak kulit jeruk *baby java* dan terjadi interaksi diantara kedua faktor tersebut (Lampiran 7), maka dari itu perlu dilakukan uji selanjutnya menggunakan uji Tukey yang dapat dilihat pada **Tabel 4.7**

**Tabel 4.7** Rerata Aktivitas Antioksidan Akibat Perlakuan Konsentrasi Etanol dan Lama Waktu Ekstraksi

Konsentrasi Pelarut	Lama Waktu Ekstraksi	Rerata Aktivitas Antioksidan (mg/L)
80%	12 jam	507,64 ± 8,60 d
	24 jam	476,40 ± 8,02 c
	36 jam	487,09 ± 16,11 c
85%	12 jam	460,22 ± 9,44 c
	24 jam	414,27 ± 9,26 b
	36 jam	367,10 ± 3,80 a
90%	12 jam	454,26 ± 10,20 c
	24 jam	396,07 ± 2,60 b
	36 jam	458,75 ± 10,92 c

Keterangan : 1) Setiap data merupakan rerata dari tiga ulangan

2) Nilai yang didampingi huruf yang berbeda menyatakan berbeda nyata pada  $\alpha=0,05$

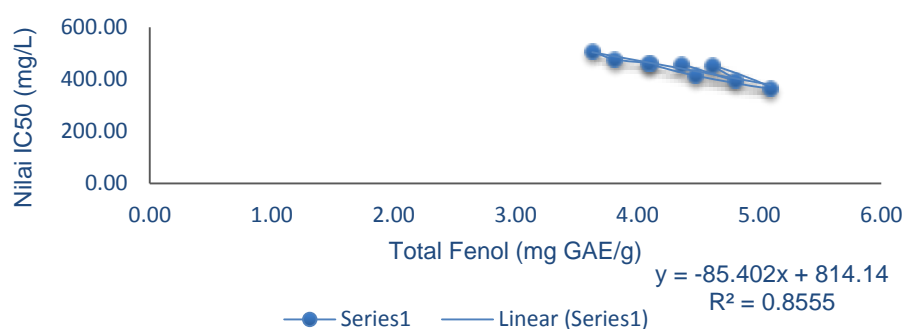
**Tabel 4.7** menunjukkan bahwa pada konsentrasi etanol 80% dan 85% nilai IC50 terus mengalami penurunan. Hal ini diduga karena berkaitan dengan banyaknya senyawa bioaktif yang bersifat sebagai antioksidan yang dapat tereskrak selama

proses ekstraksi. Pada kulit jeruk *baby java*, sebagian besar senyawa yang berperan sebagai antioksidan adalah senyawa fenolik. Pada umumnya, semakin tinggi kandungan fenolik seperti fenol, flavonoid dan tanin yang dapat terekstrak oleh suatu pelarut dalam suatu bahan maka akan membuat aktivitas antioksidan dari bahan tersebut akan semakin tinggi. Rerata nilai IC50 terendah pada kulit jeruk *baby java* didapatkan pada perlakuan 85% dengan lama waktu 36 jam yaitu sebesar 367 mg/l. Nilai IC50 yang semakin rendah berarti bahwa aktivitas antioksidan dari estrak tersebut semakin tinggi. Rendahnya nilai IC50 dari perlakuan ini diduga karena memiliki kandungan fenol, flavonoid dan tanin yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Tingginya senyawa fenolik ini dapat meningkatkan aktifitas antioksidan pada estrak tersebut. Pelarut dengan konsentrasi 85% telah dibuktikan pada penjelesan sebelumnya bahwa lebih efektif dalam mengekstrak fenol, flavonoid dan tanin dibandingkan pelarut dengan konsentrasi 80% dan 90%. Selain itu, waktu ekstraksi yang semakin lama juga dapat meningkatkan waktu kontak antara pelarut dan bahan dalam proses mengekstrak senyawa yang ada pada bahan. Hal ini diperkuat oleh Chew *et al.* (2011) yang pada penelitiannya menyatakan bahwa perlakuan perbedaan konsentrasi dan lama waktu ekstraksi mengakibatkan terdapatnya hubungan yang kuat antara senyawa fenolik dengan aktivitas antioksidan dimana senyawa fenolik diduga memiliki kontribusi yang besar pada kemampuan dalam menangkal radikal DPPH.

Namun menurut Huang (2005), tingginya jumlah senyawa fenolik belum tentu membuat aktivitas antioksidan juga ikut meningkat, hal ini dikarenakan aktivitas antioksidan dari ekstrak suatu bahan juga dapat dipengaruhi oleh struktur dan interaksi antara ekstrak senyawa fenolik. Hal ini berkaitan dengan hasil dari nilai IC50 dari perlakuan 90% dengan lama waktu 36 jam. Pada perlakuan tersebut nilai IC50 mengalami peningkatan jika dibandingkan dengan perlakuan pada waktu 12 jam. Hal ini diduga karena adanya senyawa – senyawa pengganggu yang kemungkinan berikatan dengan gugus glikosida yang berikatan dengan flavonoid, dimana hal ini dapat menurunkan aktivitas antioksidan (Ery, 2013).

#### 4.3 Uji Korelasi Senyawa Bioaktif Ekstrak Kulit Jeruk *Baby java* dengan IC50

Aktivitas antioksidan (IC50) pada ekstrak kulit jeruk *baby java* dipengaruhi oleh berbagai faktor, komponen senyawa bioaktif seperti total fenol dan total flavonoid. Berdasarkan hasil analisa yang sudah didapatkan, dilakukan uji regresi linear untuk melihat bagaimana pengaruh senyawa bioaktif seperti total fenol dan kadar flavonoid, terhadap aktivitas antioksidan (IC50) ekstrak kulit jeruk *baby java*. Korelasi antara fenol dengan nilai IC50 pada ekstrak kulit jeruk *baby java* dapat dilihat pada **Gambar 4.6**

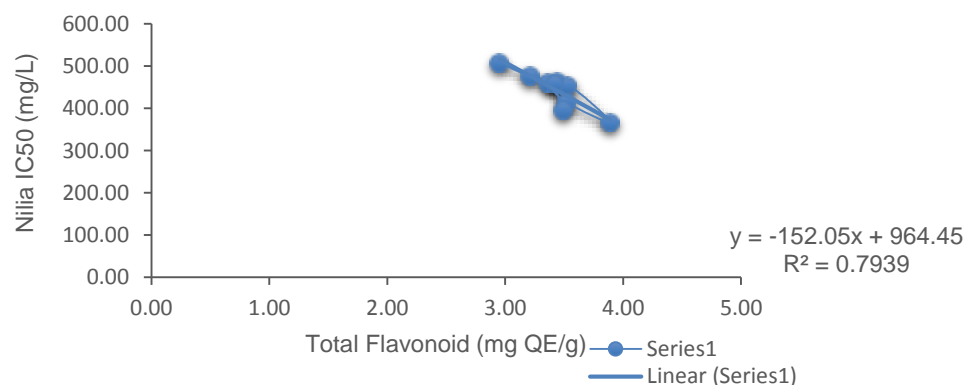


**Gambar 4.6** Grafik Korelasi Fenol dan IC50 dari Ekstrak Kulit Jeruk *Baby java* Akibat Perbedaan Konsentrasi Etanol dan Lama Waktu Ekstraksi

Berdasarkan **gambar 4.6** didapatkan persamaan linier  $y = -85,402x + 814,14$ ,  $R^2 = 0,8555$ . Hal tersebut menyatakan bahwa dari persamaan koefisien determinan terlihat korelasi antara total fenol dengan nilai IC50. Pada uji total fenol, didapatkan bahwa pemberian konsentrasi etanol 85% dengan lama waktu yang semakin meningkat mengakibatkan total fenol menjadi semakin meningkat, dimana hal tersebut mengakibatkan aktivitas antioksidan juga semakin meningkat yang ditandai dengan semakin rendahnya nilai IC50. Hal ini membuktikan bahwa total fenol mempengaruhi nilai IC50 dari ekstrak kulit jeruk *baby java*. Menurut Rohman dkk (2007), aktivitas antioksidan yang berasal dari tanaman seringkali dihubungkan dengan kandungan fenolik dan flavonoid totalnya. Hubungan antara kandungan fenolik total (x) dengan IC50 (y) ekstrak (gambar 4.6) mempunyai koefisien korelasi  $r^2 = 0,8555$ . Hasil ini menunjukkan bahwa 85% dari aktivitas antioksidan merupakan hasil kontribusi senyawa-senyawa fenol (Javanmardi dkk., 2003). Menurut Okawa (2001), efek bioaktif senyawa antioksidan terutama disebabkan oleh adanya senyawa

fenol seperti asam fenolat. Senyawa-senyawa fenolik telah dilaporkan bahwa mempunyai aktivitas antioksidan karena sifat redoks yang dimilikinya. Senyawa fenolik dapat berperan sebagai pemberi hidrogen, peredam oksigen singlet, pengkkelat logam, dan agen pereduksi (Kahkonen dkk, 1999). Selain itu Marimuthu, Wu, Chang, and Chang (2008) pada penelitiannya menyatakan adanya hubungan antara aktivitas antioksidan dengan senyawa fenol yang dikandungnya.

Korelasi antara flavonoid dan nilai IC<sub>50</sub> pada ekstrak kulit jeruk *baby java* dapat dilihat pada **Gambar 4.7**



**Gambar 4.7** Grafik Korelasi Flavonoid dan IC<sub>50</sub> dari Ekstrak Kulit Jeruk *Baby java* Akibat Perbedaan Konsentrasi Etanol dan Lama Waktu Ekstraksi

Berdasarkan **gambar 4.7** didapatkan persamaan linier  $y = -152,05x + 964,45$ ,  $R^2 = 0,7939$ . Hal tersebut menyatakan bahwa dari persamaan koefisien determinan terlihat korelasi antara total flavonoid dengan nilai IC<sub>50</sub>. Hubungan antara kandungan fenolik total (x) dengan IC<sub>50</sub> (y) ekstrak (gambar 4.8) mempunyai koefisien korelasi  $r^2 = 0,7939$ . Hasil ini menunjukkan bahwa 79% dari aktivitas antioksidan merupakan hasil kontribusi senyawa-senyawa flavonoid. Flavonoid merupakan senyawa fenol dan termasuk salah satu metabolit sekunder pada tumbuhan yang berfungsi sebagai antioksidan (Zuraida, 2017). Menurut Londono *et al.* (2010), jenis flavonoid yang ada pada kulit jeruk manis (*Citrus sinensis*), yaitu flavanon dan flavon. Flavanon terdiri dari hesperidin dan neohesperidin. Sedangkan flavon terdiri atas diosmin, nobiletin, dan tangeritin. Beberapa jenis flavonoid tersebut diduga merupakan flavonoid yang terkandung pada senyawa fenol ekstrak kulit jeruk *baby java* (*Citrus sinensis* L.Osbeck).

Flavonoid merupakan senyawa fenol dan termasuk salah satu metabolit sekunder pada tumbuhan yang berfungsi sebagai antioksidan (Zuraida, 2017). Namun

dari nilai  $r^2$  yang didapatkan dari persamaan tersebut, terdapat 21% yang menyatakan bahwa nilai IC50 tidak dipengaruhi oleh flavonoid, hal ini diduga berasal dari senyawa lain yang ada pada ekstrak kulit jeruk *baby java* selain flavonoid seperti senyawa fenolik sederhana. Faktor lain yaitu dapat disebabkan karena hanya flavonoid yang memiliki struktur dan posisi hidroksil tertentu pada molekul yang dapat menyumbangkan proton dan memiliki aktivitas penghilangan radikal (Mensor *et al.*, 2001; Hou *et al.*, 2003). Selain itu, ekstrak merupakan sesuatu yang sangat kompleks dimana di dalamnya dapat terdiri dari berbagai campuran senyawa yang memiliki aktivitas yang berbeda (Mensor *et al.*, 2001; Hou *et al.*, 2003).

#### 4.4 Perlakuan Terbaik Metode Zeleny

Penentuan perlakuan terbaik dilakukan dengan menggunakan metode multiple attribute zeleny (Zeleny, 1982). Metode *Multiple Attribute* ditujukan untuk membantu dan mengembangkan kepercayaan bagi pengambil keputusan untuk memikirkan penyelesaian terbaik (Agustawa, 2012). Perlakuan dengan jarak kerapatan maksimal terkecil merupakan hasil perlakuan terbaik dari penelitian yang dilakukan (Lampiran 8). Parameter yang digunakan adalah total fenol, total flavonoid, kadar tanin, nilai IC50 dan rendemen. Parameter yang diharapkan untuk mendapatkan nilai perlakuan terbaik dapat dilihat pada **Tabel 4.8**

**Tabel 4.8** Pemilihan Parameter Berdasarkan Faktor Kepentingan dan Nilai Pengharapan yang Terbaik

Parameter	Nilai pengharapan
Total Fenol (mg GAE/g)	Tertinggi
Total Flavonoid (mg/ QE/g)	Tertinggi
Kadar Tanin (mg/g)	Tertinggi
Rendemen (%)	Terendah
Aktivitas Antioksidan (mg/L)	Terendah

Berdasarkan hasil perhitungan nilai perlakuan terbaik (Lampiran 8), didapatkan ekstrak kulit jeruk *baby java* terbaik akibat perlakuan konsentrasi pelarut dan lama waktu yang disajikan pada **Tabel 4.9**

**Tabel 4.9** Hasil Penentuan Perlakuan Terbaik Ekstraksi Kulit Jeruk *Baby java*

Perlakuan	L1	L2	L maximum	Hasil	Urutan
K1E1	0,949	0,01476	0,25747	1,221	9
K1E2	0,956	0,01023	0,21798	1,185	8
K1E3	0,962	0,00775	0,18973	1,160	7
K2E1	0,963	0,00840	0,18356	1,155	6
K2E2	0,981	0,00188	0,09490	1,078	3
K2E3	0,996	0,00035	0,01863	1,015	1
K3E1	0,981	0,00263	0,09704	1,080	4
K3E2	0,984	0,00186	0,08225	1,068	2
K3E3	0,971	0,00531	0,14724	1,123	5

**Tabel 4.9** menunjukkan bahwa hasil perlakuan terbaik didapat pada perlakuan konsentrasi pelarut 85% dan lama waktu 36 jam dengan nilai sebesar 1,015, nilai dari perlakuan ini merupakan nilai yang paling kecil jika dibandingkan dengan nilai hasil perlakuan lainnya. Setelah perlakuan terbaik didapatkan, parameter dari hasil tersebut dibandingkan dengan bubuk kulit java yang telah dianalisa pada awal penelitian. Karakteristik parameter uji pada perlakuan terbaik ekstrak kulit jeruk *baby java* dan bubuk kulit jeruk *baby java* dapat dilihat pada **Tabel 4.10**.

**Tabel 4.10** Perbandingan Karakteristik Parameter Bubuk Kulit Jeruk *Baby java* dan Ekstrak Kulit Jeruk *Baby java*

Parameter	Bubuk Kulit Jeruk <i>Baby java</i>	Ekstrak Kulit jeruk <i>baby java</i>
	Hasil Analisa	Perlakuan Terbaik
Total Fenol (mg GAE/g)	0,50 ± 0,05	5,092 ± 0,016
Total Flavonoid (mg QE/g)	0,20 ± 0,02	3,890 ± 0,059
Kadar Tanin (mg/g)	2,59 ± 0,07	31,951 ± 0,14
Aktivitas Antioksidan (mg/L)	626,95 ± 25,85	367,10 ± 3,80
Rendemen (%)	36,06 ± 0,61	21,34 ± 0,36

Keterangan : 1) Setiap data merupakan rerata dari tiga ulangan

**Tabel 4.10** menunjukkan perbandingan hasil antara bubuk kulit jeruk *baby java* yang merupakan bahan baku dalam penelitian ekstraksi kulit jeruk *baby java* dengan hasil dari perlakuan terbaik ekstra kulit jeruk *baby java*. Berdasarkan tabel 4.10 tersebut dapat dilihat bahwa total fenol, total flavonoid dan kadar tanin dari ekstrak kulit jeruk *baby java* perlakuan terbaik mengalami peningkatan jika dibandingkan dengan bahan baku bubuk kulit jeruk *baby java*. Hal ini diduga terjadi karena adanya proses ekstraksi maserasi menggunakan pelarut etanol. Proses ekstraksi merupakan proses untuk mengekstrak suatu senyawa dari dalam bahan dengan menggunakan pelarut



yang memiliki kepolaran dan sifat yang sama dengan senyawa yang akan diekstrak tersebut. Fenol, flavonoid dan tanin termasuk senyawa golongan bersifat polar sehingga kelarutannya paling tinggi dalam pelarut yang bersifat polar. Pada penelitian ini pelarut yang digunakan yaitu pelarut etanol, pelarut etanol merupakan pelarut yang memiliki sifat polar dan non-polar dimana pelarut ini sangat cocok digunakan untuk mengekstrak senyawa yang memiliki sifat polar maupun non-polar. Menurut Sulastri dalam Ahsad (2016), jumlah tanin yang diekstrak menggunakan pelarut etanol lebih tinggi dibandingkan dengan air, hal ini disebabkan karena etanol lebih polar dibandingkan dengan air sedangkan tanin memiliki sifat polar, sehingga pada proses ekstraksi tanin, pelarut etanol adalah pelarut yang baik untuk melarutkan tanin. Pelarut etanol juga merupakan pelarut yang lebih baik untuk mengekstraksi fenol, flavonoid, dan tanin dibandingkan pelarut methanol.

Menurut Kocabey *et al.* (2017), ekstraksi maserasi dapat menyebabkan kandungan senyawa fenolik pada bahan menjadi meningkat. Nilai IC50 pada ekstrak kulit jeruk *baby java* pada perlakuan terbaik mengalami penurunan jika dibandingkan dengan nilai IC50 dari bubuk kulit jeruk *baby java*. Penurunan nilai ini berarti bahwa kemampuan aktivitas antioksidan ekstrak kulit jeruk *baby java* lebih tinggi jika dibandingkan dengan aktivitas antioksidan bubuk kulit jeruk *baby java*. Nilai IC50 berbanding terbalik dengan kapasitas antioksidan. Semakin rendah IC50 menunjukkan aktivitas antioksidan yang semakin tinggi dari suatu senyawa (Do *et al.*, 2013). Menurut (Liu *et al.*, 2009) senyawa fenolik merupakan komponen antioksidan utama dan jumlah dari senyawa fenolik dapat berpengaruh pada aktivitas antioksidan dari suatu bahan. Penurunan nilai IC50 dari ekstrak kulit jeruk *baby java* jika dibandingkan dengan bubuk kulit jeruk *baby java* diduga karena adanya kandungan senyawa fenolik yang semakin tinggi pada ekstrak kulit jeruk *baby java*. Hal tersebut dipengaruhi oleh adanya penambahan pelarut dan adanya perlakuan lama waktu ekstraksi 36 jam yang menyebabkan kontak antara pelarut dan bahan baku semakin lama. Dari penjelasan tersebut dapat disimpulkan bahwa proses ekstraksi maserasi dengan pelarut etanol dan lama waktu ekstraksi 36 jam menyebabkan kandungan senyawa bioaktif seperti fenol, flavonoid, dan tanin lebih tinggi dari bahan baku dimana senyawa-senyawa tersebut berpengaruh pada semakin rendahnya nilai IC50 ekstrak kulit jeruk *baby java*. Hal ini diduga karena adanya penambahan pelarut etanol pada ekstraksi menyebabkan adanya penetrasi dari pelarut ke dalam dinding sel – sel kulit

jeruk *baby java* yang mengakibatkan keluarnya senyawa – senyawa fenolik yang terkandung dalam kulit jeruk *baby java*, selain itu waktu ekstraksi yang semakin lama yaitu 36 jam menyebabkan waktu kontak antara pelarut dan bahan semakin besar sehingga senyawa fenolik yang terekstrak semakin tinggi (Ashad, 2016; Kocabey *et al.*, 2017). Sedangkan rendahnya hasil total fenol, flavonoid, kadar tanin dan tingginya nilai IC50 pada bubuk kulit jeruk *baby java* diduga dikarenakan perbedaan metode dan waktu ekstraksi yang digunakan (Do *et al.*, 2013). Pada analisa bubuk kulit jeruk *baby java*, pelarut yang digunakan yaitu metanol dan proses ekstraksi yang hanya berlangsung selama 2 jam menyebabkan pengeluaran senyawa – senyawa bioaktif dari bahan menjadi kurang maksimal.

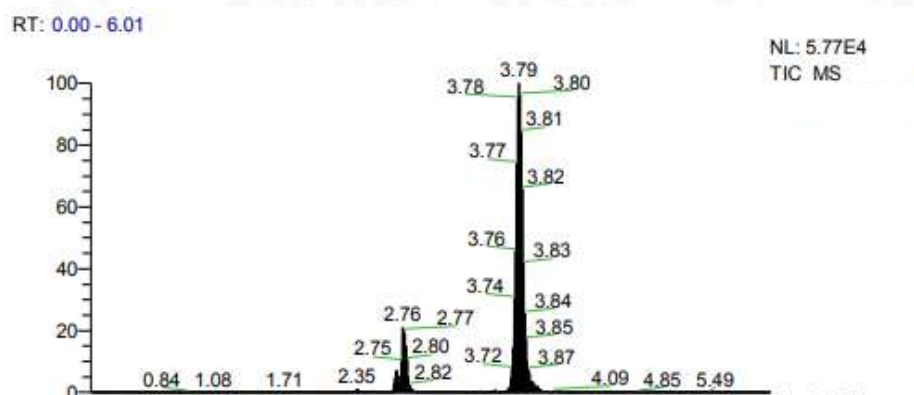
Nilai rendemen dari bubuk kulit jeruk *baby java* jika dibandingkan dengan nilai yang didapatkan dari hasil perlakuan terbaik ekstrak kulit jeruk *baby java*. Rendemen bubuk kulit jeruk *baby java* didapatkan dari berat kering hasil pengeringan dibagi dengan berat basah bahan sebelum dikeringkan kemudian dikalikan seratus, sedangkan hasil rendemen ekstrak kulit jeruk *baby java* perlakuan terbaik didapatkan dari berat hasil ekstrak dibagi dengan berat serbuk yang diekstrak kemudian dikalikan seratus. Nilai rendemen ekstrak perlakuan terbaik mengalami penurunan dibandingkan bubuk kulit jeruk *baby java* diduga karena adanya proses evaporasi pada ekstrak menggunakan *rotary evaporator* yang menyebabkan ekstrak menjadi lebih kental dan volume ekstrak berkurang. Sedangkan pada bahan baku kulit jeruk *baby java* tidak mengalami proses evaporasi sehingga berat rendemen lebih besar jika dibandingkan dengan rendemen ekstrak kulit jeruk *baby java*.

#### **4.4.1 Senyawa Flavonoid Yang Terkandung Pada Ekstrak Kulit Jeruk *Baby Java* Perlakuan Terbaik**

Setelah ditentukan ekstrak kulit jeruk *baby java* perlakuan terbaik, kemudian dilakukan analisa jenis flavonoid yang terkandung pada ekstrak tersebut. Menurut Londono *et al.* (2010), jenis flavonoid yang ada pada kulit jeruk manis (*Citrus sinensis*) adalah flavanon dan flavon, contohnya seperti hesperidin, neohesperidin, diosmin, isohorfolin, nobiletin, tengeritin, dan hesperitin. Selain itu menurut Schieber, Stintzing & Carle (2001), menyatakan bahwa pada kulit jeruk juga mengandung beberapa flavonoid penting seperti naringin, narirutin, dan eryocitrin. Berdasarkan hal tersebut,

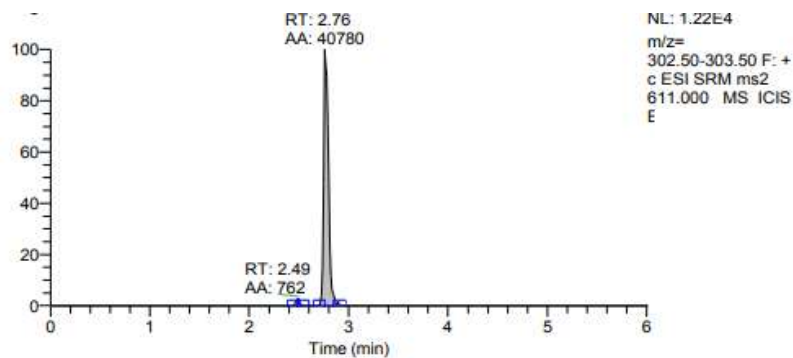
dilakukan analisa terhadap senyawa flavonoid (hesperidin, narirutin dan nobiletin) dari ekstrak kulit jeruk baby java menggunakan *liquid chromatography-mass spectrometry* atau LC-MS.

Pada analisis LC-MS, setelah sampel ekstrak kulit jeruk *baby java* melewati kromatogram cair, kemudian sampel menuju ke spektrometri massa dan dilakukan seleksi pada senyawa yang ingin dideteksi yaitu hesperidin, narirutin dan nobiletin. Hesperidin, narirutin dan nobiletin memiliki berat molekul sebesar 610,57 g/mol, 580,539 g/mol, dan 402,399 g/mol. Pada uji ini telah ditetapkan bahwa senyawa hesperidin serta nilai  $m/z$  secara berurutan yaitu 303  $m/z$ , 273  $m/z$  dan 373  $m/z$ . Pendeteksian komponen berdasarkan pada rasio massa terhadap muatan (mass-to-charge ratio,  $m/z$ ). Komponen dengan rasio  $m/z$  yang tidak diinginkan kemudian akan dihilangkan, sedangkan molekul atau analit dengan  $m/z$  rasio yang diinginkan akan diteruskan ke detektor. Detektor akan menghasilkan puncak-puncak apabila komponen yang diinginkan terdapat pada sampel (Packard-Hewlett, 1998; Pitt, 2009). Puncak-puncak dari senyawa yang ingin dideteksi pada penelitian ini dapat dilihat pada **gambar 4.8**

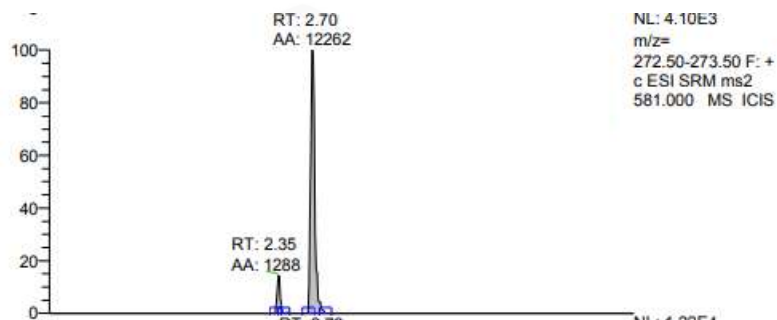


Gambar 4.8 Puncak-puncak senyawa yang ingin diidentifikasi pada LC-MS

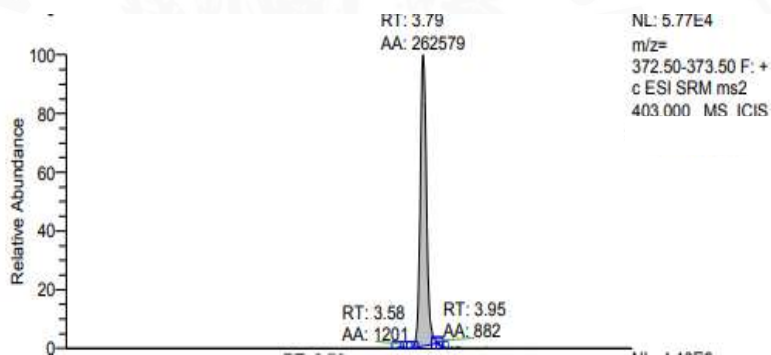
**Gambar 4.8** memperlihatkan bahwa terdapat puncak-puncak utama yang menandakan adanya senyawa target yang ingin diidentifikasi. Puncak-puncak utama muncul pada menit ke 2,75 , menit 2,76 dan menit 3,79. Dari puncak-puncak utama tersebut kemudian diidentifikasi jenis komponennya sesuai dengan nilai  $m/z$  dari masing-masing senyawa. Hasil kromatogram masing-masing puncak berdasarkan  $m/z$  dapat dilihat pada gambar **4.9**



(a)



(b)



(c)

**Gambar 4.9** Hasil kromatogram LC-MS pada senyawa flavonoid (a) Hesperidin (b) Narirutin (c) Nobiletin

**Gambar 4.9** menunjukkan bahwa terdapat 3 puncak utama yang menghasilkan senyawa yang berbeda. Dari ketiga puncak tersebut diidentifikasi bahwa puncak pertama (a) merupakan senyawa hesperidin yang muncul pada menit ke 2,76 dan  $m/z$  302,50 – 303,50. Pada puncak kedua (b) merupakan senyawa narirutin yang muncul pada menit ke 2,70 dan  $m/z$  272,50 – 273,50. Sedangkan pada puncak (c) merupakan senyawa nobiletin yang muncul pada menit ke 3,79 dan  $m/z$  372,50 – 373,50. Luas area dari ketiga senyawa tersebut dapat dilihat pada **tabel 4.11**

**Tabel 4.11** Luas Area Komponen Flavonoid Ekstrak Kulit Jeruk *BabyJava* Perlakuan Terbaik

Komponen Flavonoid	Luas Area (area/mg ekstrak)
Hesperidin	73.693 $\pm$ 1.839
Narirutin	22.942 $\pm$ 440
Nobiletin	515.221 $\pm$ 10.303

Keterangan : 1) Setiap data merupakan rerata dari tiga ulangan dan  $\pm$  menunjukkan standar deviasi

Dari **tabel 4.11** didapatkan hasil bahwa komponen flavonoid tertinggi didapatkan pada nobiletin sebesar 515.221 area/mg ekstrak, lalu hesperidin sebesar 73.693 area/mg ekstrak dan narirutin sebesar 22.942 area/mg ekstrak. Hesperidin dan narirutin merupakan flavonoid yang termasuk dalam jenis flavanon (Peterson *et al.*, 2006). Sedangkan nobiletin merupakan flavonoid yang termasuk dalam jenis flavon (Weber *et al.*, 2006). Hesperidin merupakan jenis flavonoid yang paling sering ditemukan di kulit jeruk. Hesperidin diketahui memiliki kemampuan untuk memperbaiki vaskular integritas, menurunkan permeabilitas kapiler dan digunakan sebagai suplemen untuk penderita pembuluh darah yang rapuh (Valensi *et al.*, 1996). Hesperidin juga memiliki fungsi sebagai anti-inflamasi dan efek imunomodulator (Yeh *et al.*, 2007). Lebih jauh lagi, dalam hubungannya dengan naringin, hesperidin dapat menurunkan kadar kolesterol (Lee *et al.*, 1999). Selain itu juga dilaporkan bahwa hesperidin memiliki kemampuan untuk menghambat induksi tembaga oksidasi *low density lipoprotein* atau LDL (Cirico & Omaye, 2006). Sedangkan nobiletin diketahui memiliki efek imunomodulator dan aktivitas anti-antigenik (Kurowska & Manthey, 2004). Menurut Londono *et al.* (2010), pada penelitiannya menyatakan bahwa dalam hal aktivitas antioksidan dari senyawa diatas, nobiletin lebih aktif jika dibandingkan dengan hesperidin dan narirutin.

## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang dilakukan menunjukkan bahwa :

1. Terjadi interaksi antara dua faktor perlakuan pada parameter total fenol, total flavonoid, kadar tanin, dan aktivitas antioksidan. Sedangkan pada parameter rendemen tidak terjadi interaksi terhadap dua faktor perlakuan
2. Uji korelasi antara senyawa fenol dan nilai IC50 ekstrak kulit jeruk *baby java* menyatakan bahwa 85% senyawa fenol berkontribusi sebagai senyawa yang bersifat sebagai antioksidan
3. Perlakuan terbaik diperoleh pada perlakuan dengan konsentrasi pelarut 85% dan lama waktu ekstraksi 36 jam. Karakteristik ekstrak kulit jeruk *baby java* perlakuan terbaik yaitu total fenol sebesar 5,09 mg GAE/g, total flavonoid 3,89 mg QE/g, kadar tanin 31 mg/g, IC50 367,10 mg/L dan rendemen 21%
4. Ekstrak jeruk *baby java* perlakuan terbaik mengandung beberapa jenis senyawa flavonoid yaitu hesperidin sebesar 73,693 area/mg ekstrak, narirutin sebesar 22,942 area/mg ekstrak, dan nobiletin sebesar 515,221 area/mg ekstrak

#### 5.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pemanfaatan ekstrak kulit jeruk *baby java* pada produk pangan
2. Perlu dilakukan uji lanjut tentang senyawa bioaktif lainnya yang mungkin terkandung pada ekstrak kulit jeruk *baby java*
3. Perlu dilakukan analisis lebih lanjut tentang jenis flavonoid lain yang mungkin terkandung pada ekstrak kulit jeruk *baby java* menggunakan LC-MS



## DAFTAR PUSTAKA

- Agustawa, R. 2012. **Modifikasi Pati Ubi Jalar Putih (*Ipomoea batatas* L.) Varietas Sukuh dengan Proses Fermentasi dan Metode Heat Moisture Treatment (HMT) Terhadap Karakteristik Fisik dan Kimia Pati**. Skripsi. Universitas Brawijaya, Malang
- Agustin, D. dan Ismiyati. 2015. **Pengaruh Konsentrasi Pelarut Pada Proses Ekstraksi Antosianin Dari Bunga Kembang Sepatu**. Konversi. Volume 4 Nomor 2 Oktober 2015. ISSN 2252-7311. Universitas Muhammadiyah, Jakarta
- Amutha, R. T., Kavusik, A. and Sudha. 2017. **Analysis of Bioactive Compounds in Citrus Fruit Peels**. International Journal of Scientific Research and Review Volume 6, Issue 12
- AOAC. 1984. **Official Methods of Analysis Association of Official Analytical Chemists 14<sup>th</sup> edition**. Arlington
- AOAC. 1995. **Official Methods of Analysis of The Association of Analytical Chemists**. Washington D.C
- AOAC. 1996. **Official Methods of Analysis of AOAC International 16<sup>th</sup> ed Vol II**. Washington D.C
- Arvanitoyannis, I. S. 2008. **Waste Management for the Food Industries**. Elsevier Academic Press, New York
- Ashad, K. P. H. 2016. **Ekstraksi Antioksidan Bunga Turi Merah (*Sesbania Grandiflora* (L) Pers) Dengan Metode Ultrasonic Bath (Kajian Rasio Bahan: Pelarut Dan Lama Ekstraksi)**. Hasil Skripsi. Universitas Brawijaya
- Astawan, W. dan Kasih, A. L. 2008. **Khasiat Warna – Warni Makanan**. PT Gramedia Pustaka, Jakarta
- Ayuningtyas, C. 2010. **Ekstraksi Oleoresin Kulit Kayu Manis (Kajian Perbandingan Pelarut Etanol dengan Bahan dan Lama Ekstraksi)**. Hasil Skripsi. Universitas Brawijaya, Malang
- Azwanida, N. N. 2015. **A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation. Medicinal & Aromatic Plants**. <https://pdfs.semanticscholar.org/7e7c/e805ed81702e8e69fe823233ffca3fa994bb.pdf>. Diakses pada tanggal 31 Agustus 2018

- Baldosano, Y. H., Castillo, M. B. M., Elloran, H. D. C. and Bacani, T. F. 2015. **Effect of Particle Size, Solvent and Extraction Time on Tannin Extract from *Spondias purpurea* Bark Through Soxhlet Extraction.** Source: [http://www.dlsu.edu.ph/conferences/dlsu\\_research\\_congress/2015/proceedings/FNH/008FNH\\_Bacani\\_FT.pdf](http://www.dlsu.edu.ph/conferences/dlsu_research_congress/2015/proceedings/FNH/008FNH_Bacani_FT.pdf). Diakses pada 27 Juli 2018.
- Berim, A. and Gang, D. R. 2015. **Methoxylated Flavones: Occurrence, Importance, Biosynthesis.** Phytochem Rev. DOI 10.1007/s11101-015-9426-0
- Bocco, A., Cuvelier, M. E., Richard, H. and Berset, C. 1998. **Antioxidant Activity and Phenolic Composition of Citrus Peel and Seed Extracts.** J Agric Food Chem ; 46 (6): 2123-2129
- Bouskela, E., Cyrino, F. Z. and Lerond, L. 1997. **Effects of Oral Administration of Different Doses of Purified Micronized Flavonoid Fraction on Microvascular Reactivity After Ischemia/Reperfusion in The Hamster Cheek Pouch.** Br J Pharmacol 122: 1611-1616
- Calo, R. J., Crandall, P. G., O'Bryan, C. A. and Ricke, S. C. 2015. **Essential Oils as Antimicrobials in Food Systems—A Review.** Food Control, 54, 111-119.
- Chen, M. L., Yang, J. D. and Liu, S. C. 2011. **Effects of Drying Temperature on The Flavonoid, Phenolic Acid and Antioxidative Capacities of The Methanol Extract of Citrus Fruit (*Citrus Sinensis* L. Osbeck) Peels.** International Journal of Food Science and Technology 2011, 46, 1179–1185
- Chew, K. K., Khoo, M. Z., Ng, Y. S., Thoo, Y. Y., Wan Aida, W. M. and Ho, C. W. 2011. **Effect of Ethanol Concentration, Extraction Time and Extraction Temperature on The Recovery of Phenolic Compounds and Antioxidant Capacity of Orthosiphon Stamineus Extracts.** International Food Research Journal 18 (4): 1427-1435
- Chusine, T. P. T. and Lamb, A. J. 2005. **Antimicrobial Activity of Flavonoids.** International Journal of Antimicrobial Agent. 26. 343-356.
- Cirico, T. L. and Omaye, S. T. 2006. **Additive or Synergetic Effects of Phenolic Compounds on Human Low Density Lipoprotein Oxidation.** Food and Chemical Toxicology, 44(4), 510–516.
- Cuppett, S. 1954 dalam Redha, A. 2010. **Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidatif Dan Peranannya Dalam Sistem Biologis.** Jurnal Belian Vol. 9 No. 2 Sep. 2010: 196 – 202

- Darwin, D. 2000. **Teknik Dasar Laboratorium Dalam Penelitian Senyawa Bahan Alami Hayati, Workshop Pengembangan Sumber Daya Manusia Dalam Bidang Kimia Organik Bahan Alami Hayati.** FMIPA Universitas Andalas, Padang
- Dent, M., Uzelac, V., Penić, M., Brnčić, M., Bosiljkov, T. and Levaj, B. 2012. **The Effect of Extraction Solvents, Temperature and Time on the Composition and Mass Fraction of Polyphenols in Dalmatian Wild Sage (*Salvia officinalis* L.) Extracts.** Food Technology and Biotechnology.
- Departemen Kesehatan RI, 1996 dalam Sinurat, R. 2011. Pengaruh Campuran Edible Coating Dan Lama Penyimpanan Terhadap Mutu Buah Jeruk Manis. Skripsi. Universitas Sumatera Utara, Medan
- Desmiaty, Y., Ratih, H., Dewi, M. A. dan Agustin, R. 2008. **Penentuan Jumlah Tanin Total pada Daun Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk) dan Daun Sambang Darah (*Excoecaria bicolor* Hassk.) Secara Kolorimetri dengan Pereaksi Biru Prusia.** Ortocarpus. 2008. 8, 106-109.
- Ding, Z. 1998. **Studies On Extraction And Isolation Of Flavonoids From Ginkgo Leaves.** Department of Forest Products Anhui Agricultural University, China
- Do, D. Q., Angkawijaya, E. A., Tran-Nguyen, L. P., Huynh, H. L., Soetardjo, E. F., Ismadji, S. and Ju, H. 2013. **Effect Of Extraction Solvent on Total Phenol Content, Total Flavonoids Content, and Antioxidant Activity of Limnophila Aromatic.** Journal of food and drug analysis, 2013 1:7
- Doloksaribu, R. 2009. **Isolasi Senyawa Flavonoid Dari Daun Tumbuhan Harimonting (*Rhodomyrtus tomentosa* W.ait.).** Skripsi. Universitas Sumatera Utara, Medan
- Downey, M. O. and Hanlin, R. I. 2010. **Comparison of Ethanol and Acetone Mixtures for Extraction of Condensed Tannin from Grape Skin.** S. Afr. J. Enol. Vitic., Vol. 31, No. 2, 2010
- Dwi, A. K. 2006. **Pengertian Aktivitas dan Mekanisme Antioksidan Ekstrak Ginseng Jawa.** Skripsi. Jurusan Teknologi Hasil Pertanian. Teknologi Pertanian. Universitas Brawijaya, Malang
- Egbonu, A. C. C. and Osuji, A. C. 2016. **Proximate Compositions and Antibacterial Activity of *Citrus sinensis* (Sweet Orange) Peel and Seed Extracts.** European Journal of Medicinal Plants 12(3): 1-7, 2016

- Ery, A. 2013. **Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Buah Lakum (*Cayratia trifolia*) dengan DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil)**. Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Surabaya
- Etebu, E. and Nwauzoma, A. B. 2014. **A Review on Sweet Orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck): Health, Diseases and Management**. American Journal of Research Communication. 2(2): 33-70
- Fatthurachman, D. A. 2014 **Pengaruh Konsentrasi Pelarut Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn) Dengan Metode Peredaman Radikal Bebas DPPH**. Skripsi. Universitas Syarif Hidayatullah, Jakarta
- Fisher, K. and Phillips, C. 2008. **Potential Antimicrobial Uses of Essential Oils in Food: Is Citrus The Answer**. Trends in Food Science & Technology, 19(3), 156-164.
- Flamini, G., Tebano, M. and Cioni, P. L. 2007. **Volatiles Emission Patterns Of Differentplant Organs and Pollen of *Citrus limon***. Analytica Chimica Acta, 589(1), 120--124
- Friatna, E. R., Achmad, R. dan Tanti, H. 2011. **Uji Aktivitas Antioksidan Pada Kulit Jeruk Manis (*Citrus Sinensis*) Sebagai Alternatif Bahan Pembuatan Masker Wajah**. Universitas Negeri Yogyakarta, Yogyakarta
- Garcia, F. and Gomez, E. 2004. **Chemical Engineering Science**. 59, 2489-2501
- Garg, A., Garg, S., Zaneveld, L. J. D. and Singla, A. K. 2001. **Chemistry and Pharmacology of The Citrus Bioflavonoid Hesperidin**. Phytotherapy Research Phytother. Res. 15, 655–669 (2001) DOI: 10.1002/ptr.1074
- Ghasemi, K., Ghasemi, Y. and Ebrahim, Z. M. A. 2009. **Antioxidant Activity, Phenol And Flavonoid Contents of 13 Citrus Species Peels And Tissues**. Pak Pharm Sci; 22 (3): 277-281
- Gordon, M. H., Pokorny, J. and Yanishlieve, M. 2001. **Antioxidants in Food**. CRC Press, New York
- Gordon, M. H. 1990. **The Mechanism of Antioxidan Action in Vitro** in B. J. Hudson, ed. Food Antioxidan. Elvisier Applied Science, London
- Harborne, J. B. 1980. **Plant Phenolics**. In Bell, E. A, ; Charlwood, B. V. Encyclopedia of Plant Physiology. Springer Verlag, New York

- Hagerman, A. E. 2002. **Tannin Chemistry**. Department of Chemistry and Biochemistry. Miami University, Oxford, USA
- Handa, S. S., Khanuja, S. P. S., Longo, G. and Rakesh, D. D. 2008. **Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants, (1stedn), No. 66**. United Nations Industrial Development Organization and the International Centre for Science and High Technology, Italy
- Harborne, J. B. 1996. **Metoda Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan**. Terbitan ke-2. Terjemahan Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. Institut Teknologi Bandung, Bandung
- Harborne, J. B. 1987. **Metode Fitokimia Edisi ke dua**. Institut Teknologi Bandung, Bandung
- Hart, H. 2003. **Kimia Organik : Suatu Kuliah Singkat**. Penerbit Erlangga, Jakarta
- Haslam, E. 1996. **Natural Polyphenols (Vegetable Tannins) as Drugs and Medicines: Possible Modes Of Action**. Journal of Natural Products, 59, 205-215
- Heim, K. E., Tagliaferro, A. R. and Bobilya, D. J. 2002. **Flavonoid Antioxidants: Chemistry, Metabolism and Structure-Activity Relationships**. The Journal of Nutritional Biochemistry Volume 13, Issue 10, October 2002, Pages 572-584
- Helio, F., Nuno, G., Cecilia, B. and Ana, P. D. 2010. **Antioxidant Activity of Lignin Phenolic Compounds Extracted from Kraft and Sulphite Black Liquors**. Journal of Molecules. Vol 15; p. 9308-9322. ISSN
- Hernandez-Gonzales, M.P., Karchesy, J. and Starkey, E. E. 2003. **Research Observation: Hydrolyzable and Condensed Tannins in Plants of Northwest Spain Forests**. Source: <https://journals.uair.arizona.edu/index.php/jrm/article/view/9828>. Diakses pada 1 September 2018
- Hernani. dan Rahardjo, M. 2005. **Tanaman Berkhasiat Antioksidan**. Penerbit Swadaya, Jakarta
- Hou, W. C., Lin, R. D., Cheng, K. T., Hung, Y. T., Cho, C. H., Chen, C. H., Hwang S. Y and Lee, M. H. 2003. **Free Radical Scavenging Activity of Taiwanese Native Plants**. Phytomedicine, 10: 170-175
- Huang, D., Ou, B. and Prior, R. L. 2005. **The Chemistry Behind Antioxidant Capacity**. Journal of Agricultural and Food Chemistry 53 (6): 1841-1856



- Huang, H., Li, L., Shi, W., Liu, H., Yang, J., Yuan, X. and Wu, L. 2016. **The Multifunctional Effects of Nobiletin and its Metabolites In Vivo and In Vitro**. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine Volume 2016, Article ID 2918796, 14 pages
- Huda, A. 2014. **Imobilisasi Sel Saccharomyces Cerevisiae Menggunakan Alginat-Kitosan dan Uji Stabilitasnya Untuk Produksi Etanol dari Molase Secara Fermentasi Batch**. Skripsi. Universitas Sumatera Utara, Medan
- Ihara, H., Yamamoto, H., Ida, T., Tsutsuki, H., Sakamoto, T., Fujita, T., Okada, T. and Kozaki, S. 2012. **Inhibition of Nitric Oxide Production and Inducible Nitric Oxide Synthase Expression by a Polymethoxyflavone from Young Fruits of Citrus Unshiu in Rat Primary Astrocytes**. Bioscience, Biotechnology and Biochemistry, vol. 76, no. 10, pp. 1843–1848
- Indah, S. 2013. **Keajaiban Kulit Buah**. Tribun Media, Surabaya
- Iskandar, J. 2004. **Menuju Hidup Sehat & Awet Muda**. Bhuana Ilmu Populer, Jakarta
- Ismail. 2010. **Pra Perancangan Pabrik Tanin Dari Biji Pinang Kapasitas Produksi 27.775 ton/tahun**. Universitas Sumatera Utara, Medan
- Ismarani. 2012. **Potensi Senyawa Tannin Dalam Menunjang Produksi Ramah Lingkungan**. CEFARS : Jurnal Agribisnis dan Pengembangan Wilayah Vol. 3 No. 2 Juni 2012
- Javanmardi, J., Stushnoff, C., Locke, E. and Vivanco, J. M. 2003. **Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of Iranian Ocimum Accessions**. Journal of Food Chemistr 83: 547-550
- Kahkonen, M. P., Hopia, A. I., Vuorela, H. J., Rauha, J. P., Pihlaja, K., Kujala, T. S. and Heinonen, M. 1999. **Antioxidant Activity of Extracts Containing Phenolic Compounds**. Journal of Agriculture and Food Chemistry 47: 3954-3962.
- Kamal, G. M., Anwar, F., Hussain, A. I., Sarri, N. and Ashraf, M. Y. 2011. **Yield and Chemical Composition of Citrus Essential Oils as Affected by Drying Pretreatment of Peels**. International Food Research Journal, 18(4): 1275-1282.
- Kementrian Pertanian. 2017. **Luas Panen Buah-Buahan Indonesia 2012-2016**. Sumber: <http://www.pertanian.go.id/Data5tahun/HortiATAP2016/2-L.%20Panen%20Nasional%20Buah.pdf>. Dilihat pada 2 Oktober 2017



- Kementrian Pertanian. 2017. **Produksi Buah-Buahan di Indonesia 2012-2016**.  
Sumber: <http://www.pertanian.go.id/Data5tahun/HortiATAP2016/3-Produksi%20Nasional%20Buah.pdf>. Dilihat pada 2 Oktober 2017
- Kim, M. R., Kim, W. C., Lee, D. Y. and Kim, C. W. 2007. **Recovery Of Narirutin By Adsorption On A Non-Ionic Polar Resin From A Water-Extract Of Citrus Unshiu Peels**. J Food Engin 78(1), 27-32
- Kocabey, N., Yilmaztekin, M. and Hayaloglu, A. A. 2016. **Effect of Maceration Duration on Physicochemical Characteristics, Organic Acid, Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of Red Wine from *Vitis Vinifera* L. Karaoglan**. Source: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5069260/#>. Diakses pada 1 Agustus 2018
- Komara. 1991. **Mempelajari Ekstraksi Oleoresin dan Karakteristik Mutu Oleoresin dari bagian Cabe Rawit (*Capsium frutescens*)**. Skripsi. Institut Pertanian Bogor, Bogor
- Korfmacher, W. A. 2005. **Foundation Review: Principles and Applications of LC-MS In New Drug Discovery**. Drug Discov Today; 10 (20): 1357-67
- Kumalaningsih, S. 2006. **Antioksidan Alami Penangkal Radikal Bebas**. Trubus Agrisarana, Surabaya
- Kumar, A., Narayani, M., Subanthini, A and Jayakumar, A. 2011. **Antimicrobial Activity and Phytochemical Analysis of Citrus Fruit Peels-Utilization of Fruit Waste**. International Journal of Engineering Science and Technology, 3(6): 5414-5421.
- Kumar, S. and Pandey, K. A., 2013. **Review Article Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview**. The Scientific World Journal Volume 2013, Article ID 162750, 16 pages
- Kurniawan, A., Kurniawan, C., Indraswati, N. dan Mudjijati. 2008. **Ekstraksi Minyak Kulit Jeruk Dengan Metode Distilasi, Pengepresan dan Leaching**. Widya Teknik Vol. 7, No. 1, 2008 (15-24)
- Kurowska, E. M. and Manthey, J. A. 2004. **Hypolipidemic Effects and Absorption of Citrus Polymethoxylated Flavones in Hamsters with Diet-Induced Hypercholesterolemia**. Journal of Agricultural Food Chemistry, 52(10), 2879–2886

- Lawless, J. 2002. **The Encyclopedia of Essential Oils**. Harper Collins Publishers, London
- Lee, S. H., Jeong, T. S., Park, Y. B., Kwon, Y. K., Choi, M. S. and Bok, S.H. 1999. **Hypocholesterolemic Effect of Hesperetin Mediated By Inhibition of 3-Hydroxy3-Methylglutaryl Coenzyme a Reductase and Acyl Coenzyme a: Cholesterol Acyltransferase in Rats Fed High-Cholesterol Diet**. Nutrition Research, 19(8), 1245.
- Lee, Y. C., Cheng, T. H., Lee J. S., Chen, J. H., Liao, Y. C., Fong, Y. and Wu C. W. 2011. **Nobiletin, a Citrus Flavonoid, Suppresses Invasion and Migration Involving FAK/PI3K/Akt and Small Gtpase Signals in Human Gastric Adenocarcinoma AGS Cells**. Molecular and Cellular Biochemistry, vol. 347, no. 1-2, pp. 103–115
- Lenny, S. 2006. **Senyawa Flavonoida, Fenilpropanoida, Dan Alkaloida**. Karya Ilmiah. Universitas Sumatera Utara, Medan
- Li, W., Dai, R. J., Yu, Y. H., Li, L., Wu, C. M., Luan, W. W., Meng, W. W., Zhang, X. S. and Deng, Y. L. 2007. **Antihyperglycemic Effect of Cephalotaxus sinensis Leaves and GLUT4 Translocation Facilitating Activity of its Flavonoid Constituents**. Biol. Pharm. Bull. 30(6): 1123-1129
- Li, W., Wang, X., Niu, X., Zhang, H., He, Z., Wang, Y., Zhi, W. and Liu, F. 2016. **Protective Effects of Nobiletin Against Endotoxic Shock in Mice Through Inhibiting TNF- $\alpha$ , IL-6, And HMGB1 and Regulating NF- $\kappa$ B Pathway**. Inflammation, vol. 39, no. 2, pp. 786–797
- Limasset, B., Le Doucen, C., Dore, J. C., Ojasoo, T., Damon, M. and Crastes de Paulet, A. 1993. **Effects of Flavonoids on The Release of Reactive Oxygen Species by Stimulated Human Neutrophils**. Biocem Pharmacol 46: 1257-1271
- Liu, S. C., Lin, J. T. and Wang, C. K.K. 2009. **Antioxidant Properties of Various Solvent Extracts from Lychee (Litchi Chinensis Sonn.) Flowers**. Food Chemistry 2009;114:577e81
- Londono, L. J., De-Lima, R.V., Lara, O., Gil, A., Pasa, C. B. T., Arango, J. G. and Pineda, R. R. J. 2010. **Clean Recovery of Antioxidant Flavonoids from Citrus Peel: Optimizing an Aqueous Ultrasound-Assisted Extraction Method**. Food Chemistry 119 (2010) 81–87

- Mahmoud, A. M., Ashour, M. B., Abdel-Moneim, A. and Ahmed, O. M. 2012. **Hesperidin and Naringin Attenuate Hyperglycemia-Mediated Oxidative Stress and Proinflammatory Cytokine Production in High Fat Fed/Streptozotocin-Induced Type 2 Diabetic Rats.** J Diabetes Complications, 2012 ; 26 483-490.
- Manito, P. 1992. **Biosintesis Produk Alami.** Terjemahan Koensoemardiyah. IKIP Press, Semarang
- Manthey, J. A. and Grohmann, K. 1996. **Concentration of Hesperidin and Other Peel Flavonoids in Citrus Processing Byproducts.** J. Agric. Food Chem., 1996, 44 (3), pp 811–814
- Mardiah, F. R. dan Lia. A. 2006. **Makanan Antikanker.** Kawan Pustaka, Jakarta
- Marimuthu, P., Wu, C. L., Chang, H. T. and Chang, S. T. 2008. **Antioxidant Activity of Ethanolic Extract from Bark of Chamaecyparis Obtuse Var. Formosan.** Journal of the Science of Food and Agriculture, 88, 1400–1405
- Marnoto, T., Haryono, G., Gustinah, D. dan Putra, F. A. 2012. **Ekstraksi Tannin Sebagai Bahan Pewarna Alami dari Tanaman Putrimalu (*Mimosa Pudica*) Menggunakan Kajian Konsentrasi Pelarut Terhadap Ekstrak Pigmen Dari Sabut Kelapa (*Cocos Nucifera* L) Sebagai Pewarna Alami 14 Pelarut Organik.** Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknologi Industri, Universitas Pembangunan Nasional “Veteran” Yogyakarta. Vol. 14 No. 1, April 2012, Hal. 39-45
- Maulida, D. dan Zulkarnaen, N. 2010. **Ekstraksi Antioksidan (Likopen) dari Buah Tomat dengan Menggunakan Solven Campuran, n-Heksana, Aseton, dan Etanol.** Skripsi. Universitas Diponegoro, Semarang
- Mediani., A., Abas, F., Tan, P. C. and Khatib, A. 2014. **Effects if Different Drying Methods and Storage Time on Free Radical Scavenging Activity and Total Phenolic Content of Cosmos caudatus.** Antioxidants 2014, 3, 358-370
- Melo, J. S., Kholi, S., Patwardhan, A. W. and D’Souza, S. F. 2005. **Effect of Oxygen Transfer Limitations in Phenol Biodegradation.** Process Biochemistry, 40(2), 625-628. Doi:10.106/j.procbio.2004.01.049
- Mensor, L. L., Menezes, F. S., Leitao, G. G., Reis, A. S., Ddos-Santos, T. C., Coube, C. S. and Leitao, S. G. 2001. **Screening of Brazilian Plant Extracts for**

- Antioxidant Activity by The Use of DPPH Free Radical Method.** Phytother. Res., 15: 127-130
- Mercy, N. P. J., Nithyalakshami, B. and Aadhithiya, L. R. 2015. **Extraction of Orange Oil by Improved Steam Distillation and its Characterization Studies.** International Journal of Engineering Technology, Management and Applied Sciences, 3(2): 2349-4476
- Misha, A., Sharma, A. K., Kumar, S., Saxena, A. K. and Pandey, A. K. 2013. **Bauhinia variegata Leaf Extracts Exhibit Considerable Antibacterial, Antioxidant, and Anticancer Activities.** Bio-Med Research International Volume 2013, Article ID 915436, 10 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2013/915436>
- Miyata, Y., Tanaka, H., Shimada, A., Sato, T., Ito, A., Yamanouchi, T. and Kosano, H. 2011. **Regulation of Adipocytokine Secretion and Adipocyte Hypertrophy by Polymethoxyflavonoids, Nobiletin and Tangeretin.** Life Sciences, vol. 88, no. 13-14, pp. 613–618
- Mizu, I. 2008. **Minyak Atsiri Jeruk: Peluang Meningkatkan Nilai Ekonomi Kulit Jeruk.** Warta Penelitian dan Pengembangan Pertanian. 30(6). <http://minyakatsiriindonesia.wordpress.com/minyak-jeruk/artikel/>.
- Molyneux, P. 2004. **The Use of Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity.** Songklanarin J. Sci. Technol. 26 (2). 211-219.
- Muhtadin, A. F., Wijaya, R., Prihatini, P. dan Mahfud. 2013. **Pengambilan Minyak Atsiri dari Kulit Jeruk Segar dan Kering dengan Menggunakan Metode Steam Distillation.** Jurnal Teknik Pomits Vol. 2, No. 1, (2013) ISSN: 2337-3539
- Mukhrani. 2014. **Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif.** Jurnal Kesehatan Volume VII No. 2/2014 : 361-367
- Muriel, P. 2017. **Liver Pathophysiology: Therapis and Antioxidants.** Elsevier Academic Press, San Diego
- Muriel-Galet., Virginia, C, M. J., Bigger, S. W., Hernández-Muñoz, P. and Gavara, R. 2015. **Antioxidant and Antimicrobial Properties of Ethylene Vinyl Alcohol Copolymer Films Based on The Release of Oregano Essential Oil and Green Tea Extract Components.** Journal of Food Engineering, 149, 9--16.

- Naik, G. H. 2003. **Comparative Antioxidant Activity of Individual Herbal Components Used in Medicine**. *Phytochemistry* 63 (1): 97-104
- Ningsih, G., Utami, R. S. dan Nugrahani, A. R. 2015. **Pengaruh Lamanya Waktu Ekstraksi Remaserasi Kulit Buah Durian Terhadap Rendemen Saponin Dan Aplikasinya Sebagai Zat Aktif Anti Jamur**. *Konversi* Volume 4 No1 April 2015 ISSN 2252-7311
- Omoba, S. O., Obafaye, O. R., Salawu, O. S., Boligon, A. A. and Athyade, L. M. 2015. **HPLC-DAD Phenolic Characterization and Antioxidant Activities of Ripe and Unripe Sweet Orange Peels**. *Antioxidants* 2015, 4, 498-512
- Packard-Hewlett. 1998. **Basics of LC-MS**. Hewlett-Packard Company, USA
- Parasuraman, S., Anish, R., Balamurugan, S., Muralidharan, S., Kumar, K. J. and Vijayan, S. 2014. **An Overview of Liquid Chromatography-Mass Spectroscopy Instrumentation**. *Pharmaceutical Methods* Vol 5 Issue 2
- Parkar, N. A., Bhatt, L. K. and Addepalli, V. 2016. **Efficacy of Nobiletin, A Citrus Flavonoid, in The Treatment Oof The Cardiovascular Dysfunction of Diabetes in Rats**. *Food & Function*, vol. 7, no. 7, pp. 3121–3129
- Peterson, J. J., Dwyer, J. T., Beecher, G. R., Bhagwat, S. A., Gebhardt, S. E., Haytowitz, D. B. and Holden, J. M. 2006. **Flavanones in Oranges, Tangerines (Mandarins), Tangors, and Tangelos: A Compilation and Review of The Data from The Analytical Literature**. *Journal of Food Composition and Analysis* 19 (2006) S66–S73
- Philip, K., Malek, S. N. A, Sani, W., Shin, S. K., Kumar, S., Lai, H. S., Serm, L. G. and Rahman, S. 2009. **Antimicrobial Activity of Some Medicinal Plants from Malaysia**. *American Journal of Applied Sciences* 6 (8): 1613-1617
- Pokorny. 1971. **Stabilization of Fat by Phenollic Antioxidants**. *Journal Food Technology*
- Pracaya, 2000. **Jeruk Manis, Varietas, Budidaya dan Pascapanen**. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Pratiwi, D., Hastuti, N., Armandari, I., Nur, W. N., Ikawati, M., Riyanto, S. dan Meiyanto, E. 2008. **Ekstrak Etanolik Kulit Jeruk Nipis (Citrus Aurantiifolia (Cristm.) Swingle) Meningkatkan Ekspresi P53 pada Sel Payudara Tikus Galur Spague Dawley Terinduksi 7,12-Dimetil benzene [A] Antrasena**. *Prosiding Kongres Ilmiah ISFI XVI, Yogyakarta*



- Pritt, J. J. 2009. **Principles and Applications of Liquid Chromatography-Mass Spectrometry in Clinical Biochemistry**. Source: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2643089/>. Diakses pada tanggal 13 Oktober 2018
- Pub-Chem. 2005. **Compound Summary for CID 72344**. Source: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Nobiletin#section=Top>. Diakses pada tanggal 13 Oktober 2018
- Rafiq, S., Kaul, R., Sofi, S. A., Bahsir, N., Nazir, F. and Nayik, G. A. 2016. **Citrus Peel as a Source of Functional Ingredient: A Review**. Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences
- Rafsanjani, K. M. 2014. **Karakterisasi Ekstrak Kulit Jeruk Bali (Citrus maxima) Dengan Menggunakan Metode Ultrasonic Bath (Kajian Perbedaan Pelarut dan Lama Ekstraksi)**. Hasil Skripsi. Universitas Brawijaya, Malang
- Ramesova, S., Sokolova, R., Degano, I., Bulickova, J., Zabka, J. and Gal, M. 2012. **On The Stability of The Bioactive Flavonoids Quercetin and Luteolin Under Oxygen-Free Conditions**. Analytic and Bioanalytic Chemistry January 2012, Vol.402, Issue 2, pp 975-982
- Rao, K., Aradhana, R., Banji, D., Chaitanya, R. and Kumar, A. A. 2011. **In-Vitro Anti-Oxidant and Free Radical Scavenging Activity of Various Extracs of Tectona grandis**. Linn Leaves, Journal of Pharmacy Research, 2(4), 440-442
- Rappoport, Z. 2003. **The Chemistry of Phenol**. John Wiley & Sons, Ltd ISBN: 0-471-49737-1
- Rathod, R. P. and Annapure, U. S. 2017. **Antioxidant Activity and Polyphenolic Compound Stability of Lentil-Orange Peel Powder Blend in an Extrusion Process**. J Food Sci Technology. 2017 Mar 54 (5): 954-963
- Redha, A. 2010. **Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidatif Dan Peranannya Dalam Sistem Biologis**. Jurnal Belian Vol. 9 No. 2 Sep. 2010: 196 – 202
- Risnasari, I. 2001. **Pemanfaatan Tanin Sebagai Bahan Pengawet Kayu**. Skripsi. Medan: Universitas Sumatera Utara
- Robinson, T. 1995. **Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi**. Edisi ke-4 Terjemahan Kosasih Padmawinata. Institut Teknologi Bandung Press, Bandung.



- Rohman, A., Riyanto, S. dan Hidayati, K. N. 2007. **Aktivitas Antioksidan, Kandungan Fenolik Total, dan Flavonoid Total Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia* L).** Agritech, Vol. 27, No. 4 Desember 2007
- Santoso, H. B. 2007. **Bertanam Nilam.** Kanisius, Yogyakarta
- Sarastani, D., Soekarto, R., Tien, D., Fardiaz. dan Apriyantono, A. 2002. **Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Ekstrak Biji Atung.** Jurnal Teknologi Industri Pangan. 13 : 149-156
- Sarker, S. D., Latif, Z. and Gray, A. I. 2006. **Methods in Biotechnology: Natural Products Isolation Second Edition.** Humana Press Inc : New Jersey
- Sayuti, K. dan Yenrina, R. 2015 **Antioksidan Alami dan Sintetik.** Andalas University Press, Padang
- Schieber, A., Stintzing, F. C. and Carle, R. 2001. **By-Products of Plant Food Processing as A Source of Functional Compounds – Recent Developments.** Trends in Food Science and Technology, 12(11), 401
- Sen, S. and Chakraborty, R. 2011. **The Role of Antioxidants in Human Health.** Oxidative Stress: Diagnostics, Prevention, and Therapy. Chapter 1, pp 1–37. DOI: 10.1021/bk-2011-1083.ch001. ACS Symposium Series, Vol. 1083 ISBN13: 9780841226838 eISBN: 9780841226845
- Shadmani, A., Azhar, I., Mazhar, F., Hassan, M. M., Ahmed, S. W., Ahmad, I., Usmanghani, K. and Shamim, S. 2004. **Kinetic Studies On Zingiber Officinalell.** Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences, Vol. 17, hal. 47-54
- Shahwar, D., Shafiq-ur-Rehman, A. N., Ullah, S. and Raza, M. A., 2010. **Antioxidant Activities of the Selected Plants from the Family Euphorbiaceae, Lauraceae, Malvaceae and Balsaminaceae.** African Journal of Biotechnology, 9(7): 1086-1096
- Shinta, E. dan Anjani, P. 2008. **Pengaruh Konsentrasi Alkohol dan Waktu Ekstraksi terhadap Ekstraksi Tannin dan Natrium Bisulfit dari Kulit Buah Manggis.** Makalah Seminar Nasional Soebardjo Brotohardjono. Hal 31 – 34, Surabaya
- Sianipar, R. C. 2010. **Uji Pensortiran Komoditas Buah Pada Alat Sortasi Jeruk Tipe Gravitasi.** Skripsi. Universitas Sumatera Utara, Medan
- Simanjuntak, R. D. 2015. **Uji Daya Terima Selai Kulit Jeruk Manis (*Citrus Sinensis* L) Dan Nilai Gizinya.** Skripsi. Universitas Sumatera Utara, Medan

- Spigno, G., Tramelli, L. and Faveri, D. M. D. 2007. **Effects of Extraction Time, Temperature and Solvent on Concentration and Antioxidant Activity of Grape Marc Phenolics**. Journal of Food Engineering 81 (1): 200- 208.
- Sulaiman, C. T. and Balachandran, I. 2012. **Total Phenolics and Total Flavonoids in Selected Indian Medicinal Plants**. Source: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3574537/>. Diakses pada tanggal 23 September 2018
- Suryandari, S. 1981. **Pengambilan Oleoresin Jahe dengan Cara Solvent Ekstraksi**. BUL IHP (2) BBIHP, Bogor
- Tahir, I., Wijaya, K. dan Widianingsih, D. 2003. **Terapan Analisis Hansch Untuk Aktivitas Antioksidan senyawa Turunan Flavon/Flavonol**. Seminar Chemometrics Chemistry Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Tamat, S. R., Wikanta, T. dan Maulina, L. S. 2007. **Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas Senyawa Bioaktif dari Ekstrak Rumput Laut Hijau *Ulva reticulata* Forsskal**. Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia, 5 (1) : 31-36.
- Tambun, R., Limbong, P. H., Pinem, C. dan Manurung, E. 2016. **Pengaruh Ukuran Partikel, Waktu Dan Suhu Pada Ekstraksi Fenol Dari Lengkuas Merah**. Jurnal Teknik Kimia USU, Vol. 5, No. 4
- Tan, M., Tan, C. and Ho, C. 2013. **Effects of Extraction Solvent System, Time and Temperature on Total Phenolic Content of Henna (*Lawsonia Inermis*) Stems**. International Food Research Journa, 20(6), 3117-3123.
- Tokusoglu O. and Hall, C. 2011. **Fruit and Cereal Bioactives: Sources, Chemistry, and Applications**. Taylor & Francis, England
- Tominari, T., Hirata, M., Matsumoto, C., Inada, M. and Miyaura, C. 2012. **Polymethoxy Flavonoids, Nobiletin and Tangeretin, Prevent Lipopolysaccharide-Induced Inflammatory Bone Loss in an Experimental Model For Periodontitis**. Journal of Pharmacological Sciences, vol. 119, no. 4, pp. 390–394
- Tomsone, L., Kruma, Z. and Galoburda, R. 2012. **Comparison of Different Solvents and Extraction Methods for Isolation of Phenolic Compounds from Horseradish Roots (*Armoracia rusticana*)**. World Academy of Science, Engineering and Technology, 6, 1155-1160.

- Tumbas, V. T., Cetkovic, G. S., Djilas, S. M., Brunet, J. M. C., Vulic, J. J., Knez, Z. and Skerget, M. 2010. **Antioxidant Activity of Mandarin (*Citrus reticulata*) Peel**. APTEFF, 41, 195-203
- Valensi, P. E., Behar, A., de-Champvallins, M. M., Attalah, M., Boulakia, F. C. and Attali, J. R. 1996. **Effects of A Purified Micronized Flavonoid Fraction on Capillary Filtration in Diabetic Patients**. Diabetic Medicine, 13(10), 882–888
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin Mark, T. D., Mazur, M. and Teisher, J. 2007. **Free Radicals and Antioxidants in Normal Physiological Functions and Human Disease**. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology. Volume 39, issue 1, 2007, Pages 44-84
- Vatai, T. M., Škerget, Z. and Knez. 2009. **Extraction of Phenolic Compounds from Elder Berry and Different Grape Marc Varieties Using Organic Solvents and/or Supercritical Carbon Dioxide**. Journal of Food Engineering, 90 (2009), pp. 246–254.
- Wahyuni, D. T. dan Widjanarko, S. B. 2015. **Pengaruh Jenis Pelarut dan Lama Ekstraksi Terhadap Ekstrak Karotenoid Labu Kuning dengan Metode Gelombang Ultrasonik**. Jurnal Pangan dan Agroindustri. 3 (2): 390-401
- Walton, N. J. and Brown, D. E. 1999. **Chemicals from Plants: Perspective on Plant Secondary Products**. Imperial College Press and World Scientific Publishing, London
- Washburn, E. W. 2003. **International Critical Tables of Numerical Data, Physics, Chemistry and Technology**. Knovel Publishing, Norwich
- Weber, B., Hartmann, B., Stockigt, D., Schreiber, K., Roloff, M. and Bertram, H. J. 2006. **Liquid Chromatography/Mass Spectrometry And Liquid Chromatography/ Nuclear Magnetic Resonance As Complementary Analytical Techniques for Unambiguous Identification of Polymethoxylated Flavones in Residues from Molecular Distillation of Orange Peel Oils (*Citrus Sinensis*)**. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54(2), 274–278
- Werdhasari, A. 2014. **Peran Antioksidan Bagi Kesehatan**. Jurnal Biotek Medisiana Indonesia Vol.3.2.2014: 59-68
- Wijana, S., Citraresmi, A. D. P., Dewanti, B. S. D., Pranowo, D., Perdani, C.G. dan Rahmah, N.L. 2016. **Analisis Proses Produksi Sirup Jeruk Baby Java Pada**

- Skala Pilot Plant.** Jurnal Teknologi Pertanian Vol. 17 No. 3 [Desember 2016] 213-230
- Wijaya, A. 1996. **Radikal Bebas dan Parameter Status Antioksidan.** Forum Diagnosticum. Lab Klinik Prodia 1:1-12
- Wijaya, H., Novitasari. dan Jubaidah, S. 2018. **Perbandingan Metode Ekstraksi Terhadap Rendemen Ekstrak Daun Rambai Laut.** Jurnal Ilmiah Manuntung, 4(1), 79-83, 2018
- Wijastuti, L. 2011. **Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Buah Jeruk Manis (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) terhadap Staphylococcus aureus dan Escherichia coli Multiresisten serta Brine Shrimp Lethality Test.** Skripsi. Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta
- Wilmsen, P. K., Spada, D. S. and Slavador, M. 2005. **Antioxidant Activity of the Flavonoid Hesperidin in Chemical and Biological Systems.** Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53 (12), 4757-4761. Doi: 10.1021/jf0502000
- Winarsi, H. 2007. **Antioksidan Alami dan Radikal Bebas.** Kanisius, Yogyakarta
- Wulandari, M., Idiawati, N. dan Gusrizal. 2013. **Aktivitas Antioksidan Ekstrak N-Heksana, Etil Asetat Dan Metanol Kulit Buah Jeruk Sambal (*Citrus microcarpa* Bunge).** JKK, tahun 2013, volume 2 (2), halaman 90-94 ISSN 2303-1077
- Yang, Y. and Zhang, F. 2008. **Ultrasound-Assisted Extraction of Rutin and Quercetin from *Euonymus Alatus* (Thunb.) Sieb.** Ultrasonics Sonochemistry 15 (4): 308-313
- Yeh, C. C., Kao, S. J., Lin, C. C., Wang, S. D., Liu, C. J. and Kao, S. T. 2007. **The Immunomodulation of Endotoxin-Induced Acute Lung Injury by Hesperidin In Vivo and In Vitro.** Life Science, 80 (20), 1821–1831
- Yoshigai, E., Machida, T., Okuyama, T., Mori, M., Murase, H., Yamanishi, R., Okumura, T., Ikeya, Y., Nishino, H. and Nishizawa, M. 2013. **Citrus Nobiletin Suppresses Inducible Nitric Oxide Synthase Gene Expression in Interleukin-1 $\beta$ -Treated Hepatocytes.** Biochemical and Biophysical Research Communications, vol. 439, no. 1, pp. 54–59
- Yu, Liangli. 2007. **Wheat Antioxidants.** Department of Nutrition and Food Science The University of Maryland

- Zanchi, D., Guyot, S., Konarev, P., Baron, A., and Svergun, D. 2007. **Physical Properties of Tannins Aged by Oxidation.** Source: [http://hasyweb.desy.de/science/annual\\_reports/2007\\_report/part2/contrib/73/20261.pdf](http://hasyweb.desy.de/science/annual_reports/2007_report/part2/contrib/73/20261.pdf). Diakses pada 02 September 2018
- Zhang, L., Zhang, X., Zhang, C., Bai, X., Zhang, J., Zhao, X., Chen, L., Wang, L., Zhu, C., Cui, L., Chen, R., Zhao, T. and Zhao, Y. 2016. **Nobiletin Promotes Antioxidant and Anti-Inflammatory Responses and Elicits Protection Against Ischemic Stroke in Vivo.** Brain Research, vol. 1636, pp. 130–141
- Zhang, Z. S., Li, D., Wang, L. J., Ozkan, N., Chen, X. D., Mao, Z. H. and Yang, H. Z. 2007. **Optimization of Ethanol–Water Extraction of Lignans From Flaxseed.** Separation and Purification Technology 57 (1): 17- 24
- Zuraida, Z., Sulistiyani, S., Sajuthi, D. dan Suparto, H. I. 2017. **Fenol, Flavonoid, Dan Aktivitas Antioksidan Pada Ekstrak Kulit Batang Pulai (*Alstonia scholaris* R.Br).** Source: <http://ejournal.forda-mof.org/ejournal-litbang/index.php/JPHH/article/view/3035>. Diakses pada tanggal 1 Agustus 2018

